



國立臺灣大學工學院高分子科學與工程學研究所

碩士論文

Institute of Polymer Science and Engineering

College of Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

以分子動力模擬探討去乙醯度與 pH 對乙二醇幾丁聚醣水膠的
結構特性之影響

Effect of pH and degree of deacetylation on molecular structures
and properties of glycol chitosan hydrogel: a molecular dynamics
study

許舜傑

Shun-Chieh Hsu

指導教授：徐善慧 博士，張書瑋 博士

Advisor: Shan-hui Hsu, Ph.D., Shu-Wei Chang, Ph.D.

中華民國 108 年 7 月

July, 2019



誌謝

時間過得非常的快，碩士的生涯已經來到了尾聲。感謝張書瑋老師以及徐善慧老師兩位師長在擔任我碩士生涯的指導教授的這兩年時間對我的耐心教導以及在研究方向上的指引。感謝老師幫助我用正確的態度去面對問題並且了解如何自己去找到方法解決它。而在最後的碩士口試時候，除了兩位老師，另一位口試委員賴育英老師也同樣在我的碩士生涯中提供了我許多寶貴的意見以及方向，使我的碩士論文可以更加的完善。

而在我碩士在學修課期間的日子中，感謝我所認識的同一個系所的同學在我修課時給予的幫助，讓我修課學習的過程更加順利以及扎實。而在學術研究方面，感謝在我剛成為碩士研究生時教導我的關宇軒學長，幫助我在碩一時可以快速的進入狀態。再來則是感謝同屆的同學：李登、惠維翰、林湘迪以及邱冠銘在碩士生涯的互相扶持以及鼓勵，讓我這兩年順利的面對了許多問題並且一一解決它們。最後則是感謝學弟妹們：利昕晉、葉凱智等人在口試期間給予的幫助以及一些研究上的建議。

此外，還要感謝我的家人在這段時間給予我的支持以及幫助，讓我可以無顧慮的去完成碩士學位。最後也感謝這一路上認識的其他朋友，讓我碩士在學的這段時間可以過得多采多姿，在課餘時間有著許多美好的回憶。在此對這些人致上最高的謝意。

摘要

幾丁聚醣為幾丁質去乙醯後的一種天然陽離子線性多醣高分子。而乙二醇幾丁聚醣作為幾丁聚醣的衍生物，由於其優良的生物相容性以及獨特的生物特性，其已經被廣泛的應用在生物工程中有關於生醫材料以及水膠方面的應用，其中智能水膠被認為在傷口癒合以及組織再生方面是有前景的生醫材料。但是，儘管已經有諸多方面的應用，乙二醇幾丁聚醣水膠中的網絡結構特性及作用依然不清楚。

因此本研究建立了不同 pH 條件下的乙二醇幾丁聚醣水膠的模型，透過分子動力模擬，探討了不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣網絡的分子鏈彈性、型態以及分布排列等性質，了解乙二醇幾丁聚醣的結構性質隨著 pH 變化，如何影響水膠的膨潤行為。研究中也建立了不同去乙醯度以及不同 pH 條件下的乙二醇幾丁聚醣水膠的模型，了解乙二醇幾丁聚醣網絡的結構特性在不同的乙醯度及不同 pH 條件下的表現差異。

另外，在研究中還在不同 pH 條件下的乙二醇幾丁聚醣水膠的模型加入交聯劑雙官能基聚乙二醇，了解交聯劑如何影響乙二醇幾丁聚醣在水膠中的結構特性。並透過模擬，初步了解乙二醇幾丁聚醣與雙官能基聚乙二醇之間作用力如何影響自癒合機制的運行。研究結果解釋了 pH 對乙二醇幾丁聚醣分子結構的影響，並提供了乙二醇幾丁聚醣及其衍生物在生物醫學方面應用上的材料設計基礎知識。

關鍵字：分子動力模擬、水膠、pH、質子化、乙二醇幾丁聚醣

ABSTRACT



Chitosan is a natural polycationic linear polysaccharide deacetylated from chitin. Glycol chitosan is a derivative of chitosan and has been extensively investigated in the biocompatibility and hydrogel field for many bioengineering applications because of their unique material and biological properties. Smart hydrogels are a promising biomaterial for wound healing and tissue regeneration among them. However, the molecular structure and network of glycol chitosan hydrogels remain unclear.

Here, glycol chitosan hydrogel models at different protonation percentages are constructed to understand the interactions between the water molecules and glycol chitosan chains. This study explored the molecular structures and network of glycol chitosan with different pH levels by a molecular dynamics approach. This study investigates the flexibility, conformation, and arrangement of glycol chitosan polymer chains in water solutions at different protonation percentages to understand how the protonation percentages affect the structure property and swelling behavior. Glycol chitosan hydrogel models at different degrees of deacetylation and different protonation percentages are also constructed to understand the effects of degree of deacetylation on the molecular structures of glycol chitosan at different at pH levels.

Moreover, we add crosslinkers, telechelic difunctional poly(ethylene glycol), into glycol chitosan hydrogel models at different protonation percentages to understand the effects of crosslinkers on the molecular structures of glycol chitosan in the hydrogel. Through the simulation, we can preliminarily understand how the interactions between glycol chitosan and telechelic difunctional poly(ethylene glycol) affect the self-healing mechanism. The results of this study explain the effects of pH on the molecular structures of glycol chitosan and provide useful information regarding design strategies

and facilitate the development of novel smart hydrogels.

Keyword : Molecular dynamics, hydrogel, pH, protonation, glycol chitosan



目錄



誌謝	i
摘要	ii
ABSTRACT	iii
目錄	v
圖目錄	vii
表目錄	xi
第 1 章、 緒論.....	1
1.1 背景介紹	1
1.2 文獻回顧	3
1.2.1 幾丁聚醣	3
1.2.2 可注射的自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠.....	5
1.2.3 分子動力模擬	11
1.3 研究目的	12
1.4 論文方向	12
第 2 章、 理論與方法.....	13
2.1 分子動力模擬	13
2.1.1 條件設計	14
2.1.2 CVFF 力場	15
2.1.3 週期性邊界條件	16
2.2 模型設計	17
2.3 模擬流程	19
2.3.1 不同質子化程度下的多條乙二醇幾丁聚醣分子鏈在水溶液中	20
2.3.2 不同質子化程度下的單條乙二醇幾丁聚醣分子鏈在真空環境中	20
2.3.3 不同去乙醯度下的乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度下	20
2.3.4 不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣水膠加入交聯劑遙爪雙官能 基聚乙二醇	21
2.4 分析方法	22

2.4.1	迴轉半徑 (radius of gyration, 簡稱 R_G)	22
2.4.2	頭尾端距 (end to end distance)	22
2.4.3	徑向分布函數 (radial distribution function, 簡稱 RDF)	23
2.4.4	氫鍵	23
2.4.5	黏度	24
2.4.6	周圍原子個數	25
第 3 章、	pH 對乙二醇幾丁聚醣水膠之影響	26
3.1	乙二醇幾丁聚醣水膠在 pH=7 之分子結構特性	26
3.2	pH 對乙二醇幾丁聚醣在水膠中的分子結構特性與分布情況之影響	29
3.3	pH 對乙二醇幾丁聚醣在水膠中的氫鍵形成的影響	35
3.4	討論	45
第 4 章、	去乙醯度以及交聯劑對己二醇幾丁聚醣水膠之影響	47
4.1	pH 對不同去乙醯度之乙二醇幾丁聚醣水膠中的分子結構特性與分布情況之影響	47
4.2	pH 對不同去乙醯度的乙二醇幾丁聚醣在水膠中的氫鍵形成的影響	56
4.3	不同 pH 下, 加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇的幾丁聚醣自癒合水膠模型之影響	68
4.4	討論	77
第 5 章、	結論與未來展望	80
5.1	結論	80
5.2	未來展望	82
參考文獻		83

圖目錄

圖 1-1、甲殼類外骨骼在不同尺度下的結構組成示意圖[29]	4
圖 1-2、自癒合機制的希夫鹼鍵形成示意圖[16]	6
圖 1-3、有無自癒合功能比較圖(A)自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠與藻酸鹽水膠癒合情況比較(B) 自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠與藻酸鹽水膠個別注射所需針頭孔徑[16].....	7
圖 1-4、自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠以及藻酸鹽水膠之間機械性質差異[16]	8
圖 1-5、神經幹細胞在自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠以及藻酸鹽水膠中增生情況[16]	8
圖 1-6、在斑馬魚胚胎為 18 體節階段時比較其自發收縮反應[16]	9
圖 1-7、斑馬魚胚胎的孵化率比較[16]	10
圖 2-1、週期性邊界條件示意圖	16
圖 2-2、乙二醇幾丁質經由去乙醯化後變成乙二醇幾丁聚醣，再經由質子化使胺基帶有正電	17
圖 2-3、(A) 乙二醇幾丁聚醣單體連接立體結構圖(B) 去乙醯度為 100%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖(C) 去乙醯度為 80%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖(D) 去乙醯度為 60%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖	18
圖 2-4、模型 VMD 截圖(A)單條乙二醇幾丁聚醣分子鏈結構(B)單條遙爪雙官能基聚乙二醇分子鏈結構(C)多條乙二醇幾丁聚醣分子鏈隨機分布在真空環境下(D)多條乙二醇幾丁聚醣分子鏈隨機分布在水中	19
圖 2-5、 R_G 示意圖	22
圖 2-6、頭尾端距示意圖 (紅色球為氧原子，黑線為頭尾端距，模型: 乙二醇幾丁聚醣分子鏈)	22
圖 2-7、RDF 示意圖	23
圖 2-8 氫鍵示意圖，乙二醇幾丁聚醣分子鏈與水分子形成氫鍵	24
圖 2-9、水的黏度隨時間變化圖，藍色、紅色以及綠色依序為 xy、xz 以及 yz 向量	25
圖 2-10、乙二醇幾丁聚醣上的胺基周遭的遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端的羰基個數示意圖	25

圖 3-1、乙二醇幾丁聚醣結構分類示意圖.....	27
圖 3-2、乙二醇幾丁聚醣結構分類後不同部位 R_G 比較.....	27
圖 3-3、乙二醇幾丁聚醣上與水形成氫鍵官能基分類示意圖.....	28
圖 3-4、乙二醇幾丁聚醣結構及官能基分類後各部位與水間氫鍵比較.....	29
圖 3-6、乙二醇幾丁聚醣在水膠模型及真空中的 R_G 隨質子化程度變化.....	30
圖 3-7、去乙醯度為 100% 的乙二醇幾丁聚醣水膠模型在不同質子化程度下的 VMD 影像截圖.....	32
圖 3-8、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度之 RDF.....	34
圖 3-9、以幾丁聚醣為主體的水膠在不同 pH 條件下的膨潤實驗[59-61].....	35
圖 3-10、乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨質子化程度變化.....	36
圖 3-11、N1 以及 N2 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化.....	37
圖 3-12、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化.....	37
圖 3-13、(A)沒有靠近 N2 之 O1-main 以及鄰近 N2 之 O1-main 兩者與水間氫鍵發 生率隨質子化程度變化(B)沒有靠近 N2 之 O2-main 以及鄰近 N2 之 O2-main 兩者與水間氫鍵發生率隨質子化程度變化.....	39
圖 3-14、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化.....	40
圖 3-16、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化.....	42
圖 3-17、O1-side 以及 O2-side 與 N2 之間的距離.....	42
圖 3-18、聚集現象示意圖以及沒靠近其他乙二醇幾丁聚醣分子鏈的乙二醇隨著質 子化程度變化.....	43
圖 3-19、乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵總數以及機制示意圖(A)乙二醇幾丁聚醣與 水間氫鍵總數隨質子化程度變化(B)乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵總數隨 質子化程度變化示意圖及分類圖.....	44
圖 3-20、Orientation interference 以及 electrostatic effect 對乙二醇幾丁聚醣與水間氫 鍵形成影響示意圖.....	45
圖 4-1、不同的去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的頭尾端距隨不同質子化程度之 變化.....	48
圖 4-2、不同的去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的頭尾端距隨不同 pH 值之變化	49
圖 4-3、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的 R_G 隨不同質子化程度之變化	49

圖 4-4、不同的去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的 R_G 隨不同 pH 值之變化.....	50
圖 4-5、在去乙醯度為 80% 時，不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖	51
圖 4-6、在去乙醯度為 60% 時，不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖	52
圖 4-7、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度之 RDF (A) 去乙醯度 100% (B) 去 乙醯度 80% (C) 去乙醯度 60%	54
圖 4-8、不同去乙醯度下，峰值線下面積隨著 pH 變化(A)距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值線下面 積(A)距離 $> 50 \text{ \AA}$ 的峰值線下面積	55
圖 4-9、乙二醇幾丁聚醣上與水形成氫鍵官能基分類示意圖.....	57
圖 4-10、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨質子化程 度變化	58
圖 4-11、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨 pH 變化	58
圖 4-12、(A)不同去乙醯度時，N1、N2 以及 N3 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變 化(B)不同去乙醯度時，N1、N2 以及 N3 與水間氫鍵發生率隨著質子化 程度變化	60
圖 4-13、不同去乙醯度時，O1-main、O2-main 以及 O3 與水間氫鍵總數隨著質子 化程度變化	61
圖 4-14、不同去乙醯度下與水間氫鍵發生率之變化(A) O1-main 與水間氫鍵發生率 隨著質子化程度變化(B) O1-main 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化(C) O2-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(D) O2-main 與水間氫 鍵發生率隨著 pH 變化(E) O3 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化 (F)O3 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化.....	63
圖 4-15、不同去乙醯度時，O1-side、O2-side 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化	64
圖 4-16、不同去乙醯度下與水間氫鍵發生率之變化(A) O1-sdie 與水間氫鍵發生率 隨著質子化程度變化(B) O1-side 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化(C) O2-side 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(D) O2-side 與水間氫 鍵發生率隨著 pH 變化.....	66

圖 4-17、不同去乙醯度時，乙二醇幾丁聚醣水膠與水間總氫鍵數隨著質子化程度變化	67
圖 4-19、乙二醇幾丁聚醣在自癒合水膠模型的頭尾端距隨質子化程度變化	69
圖 4-20、乙二醇幾丁聚醣在自癒合水膠模型的 R_G 隨質子化程度變化	69
圖 4-21、不同質子化程度下的加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇後乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖	71
圖 4-22、在所有加入遙爪雙官能基聚乙二醇的乙二醇幾丁聚醣水膠模型中，遙爪雙官能基聚乙二醇（圖中以紅色表示）存在的四種型態(A)兩條乙二醇幾丁聚醣分子鏈之間(B)兩條乙二醇幾丁聚醣分子鏈的頭尾之間(C)吸附在單條乙二醇幾丁聚醣分子鏈上(D)自身聚集成一團	72
圖 4-23、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度之 RDF (A)沒有加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇 (B) 有加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇	73
圖 4-24、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度、不同去乙醯度以及有無加入遙爪雙官能基聚乙二醇下之黏度	74
圖 4-25、不同質子化程度下乙二醇幾丁聚醣的胺基周圍 5 \AA 以內的的遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端羰基數量隨時間變化(A)質子化程度為 0% (B)質子化程度為 20% (C)質子化程度為 40% (D)質子化程度為 60% (E)質子化程度為 80% (F)質子化程度為 100%	76
圖 4-26、乙二醇幾丁聚醣上的胺基與遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端的羰基之間的分子間氫鍵數隨著不同質子化程度下的變化	77

表目錄



表 4-1、不同去乙醯度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型在不同質之化程度對應之 pH 值	47
---	----

第1章、緒論



1.1 背景介紹

水膠，具有三維空間網狀結構與親水性的聚合物材料，會在水中以及水溶液中進行膨潤 (swelling) 行為。從 1960 年代到現在，水膠因為它們的低廉價格以及多元的應用範圍，已經被廣泛應用在科學以及工業方面的生醫材料中[1-5]。它們具有近似於天然軟組織材料的機械性質，因此也被廣泛應用在組織工程中，當作細胞的載體以及支架[6-8]。

而在水膠中，智慧型水膠 (smart hydrogel) 因為他們的高含水量以及對外在環境的刺激 (例如：溫度、pH、光線、觸媒以及電場等等) 有特定的反應行為，因此被認為在傷口癒合以及組織再生方面是有前景的生醫材料[9-13]。因為它們的優異的生物相容性以及上述的獨特機械性質，在控制藥物釋放的藥物載體的材料選擇上，它們也被當作具有潛力的候選材料[8, 14, 15]。

而在智能水膠中，可注射的自癒合 (self-healing) 水膠對於臨床的應用更是有著潛在的吸引力。因為它們可以顯著的減少患者的不適、感染的風險、治療恢復時間以及成本[16]。一般的水膠在經由針筒的注射之後，其三維空間網狀結構會因為狹小的針孔孔徑造成的剪應力而使結構被破壞掉，因此喪失掉作為藥物載體或是細胞支架的功能；除了在針孔植入的過程中會受到外力破壞，植入後的水膠也會受到日常的身體運動而持續受到機械力的影響而使網絡結構受到破壞[17]。而自癒合水膠的出現解決了水膠因為結構被外力破壞而失去功效的這個困擾，在注射之後無須外力的干涉就能夠自行癒合結構[16]。

而可注射且具有自癒合機制的乙二醇幾丁聚醣 (glycol chitosan, 簡稱 GC) 水膠已經被用在治癒中樞神經系統的缺陷的研究中[16]。幾丁聚醣 (chitosan) 是自然界中最豐富的多醣之一，由幾丁質 (chitin) 去乙醯化 (deacetylation) 後得到以 β -(1-4) 連接方式連接的 D-葡萄糖胺以及 N-乙醯基-D-葡萄糖胺[18]。而幾丁聚醣已經被廣泛的應用在細胞載體以及藥物傳輸等研究中，並且在食品加工以及傷口癒合方面也已經有 FDA 批准的產品[19-25]。而因為幾丁聚醣通常不溶於 pH 為 6 以上的環境且需要酸去進行質子化 (protonation)，儘管其擁有眾多優越的應用性質，

但是常常受限於有限的水溶性，特別是在生物系統（pH 約 7.4）當中[26, 27]。因此，已經有眾多的幾丁聚醣的衍生物被開發出來解決這一個缺陷，而 GC 就是其中一個。GC 為幾丁聚醣嫁接上具有良好親水性的乙二醇分子，除了在大範圍的 pH 值中都能保持良好水溶性之後，也保持了幾丁聚醣本身具有的良好生物相容性 [28]。



1.2 文獻回顧

1.2.1 幾丁聚醣

幾丁質是海洋中總量最多的可再生多醣，也是繼纖維素之後最豐富的多醣之一。幾丁質主要存在於龍蝦與螃蟹等甲殼類以及昆蟲的外骨骼，還有真菌的細胞壁中的聚合物，如圖 1-1 所示為龍蝦的外骨骼在不同尺度下的結構組成[29]。而幾丁質經過去乙醯化後，就可以得到幾丁聚醣。幾丁聚醣具有優異的生物相容性、低生理毒性以及免疫刺激性，加上它們的取得容易、價格低廉以及以上優異的特性，因此在生醫材料被廣泛的應用以及研究[14]。而根據去乙醯程度（degree of deacetylation，簡稱 DDA）的不同，而對幾丁聚醣的性質有著重大的影響。DDA 的定義為去乙醯化後的 D-葡萄糖胺單體佔所有單體的比例。當所佔比例 $< 50\%$ 時，因為性質比較接近幾丁質而歸類在幾丁質。而當所佔比例 $> 50\%$ 時，因為性質比較接近幾丁聚醣而歸類在幾丁聚醣。而 DDA 程度最直接影響的其中一個性質就是在水中的溶解度。儘管幾丁聚醣已經需要在酸性環境 ($\text{pH} < 6.0$) 下才能溶於水溶液，幾丁質相較於幾丁聚醣需要在更加酸性的環境下才能溶於酸性溶液中。因為沒有去乙醯化的 D-葡萄糖胺會促進幾丁聚醣的結構變化，加上分子間氫鍵的作用，而使其變成更具結晶性的鏈狀高分子，因此較不容易溶於水溶液中[30]。幾丁聚醣在 pH 為 7.4 的生物系統中，因為 pH 大於 pK_a (約等於 6.3)，D-葡萄糖胺上的胺基不會進行質子化而不帶有正電，因此難溶於水中而只溶於酸性溶液中。當 DDA 程度越低時，可以質子化單體數下降，進而使得在同樣 pH 的酸性條件時，幾丁質也更加難溶於水，所以 DDA 程度與質子化程度之間也有著莫大的關聯。

而除了 DDA 對幾丁聚醣的性質有著重要影響，幾丁聚醣的分子量也是影響其性質的重要因素之一[31]。當幾丁聚醣的分子量較大時 ($> 1 \text{ MDA}$)，幾丁聚醣幾乎無法溶於水中，同時也會造成幾丁聚醣本身在生物體中的代謝速度下降，進而限制了其在生醫材料的應用。而高分子量還會造成幾丁聚醣溶液的黏度過大，即使是在較低的濃度下，仍然會因為黏度過大而難以進行加工。

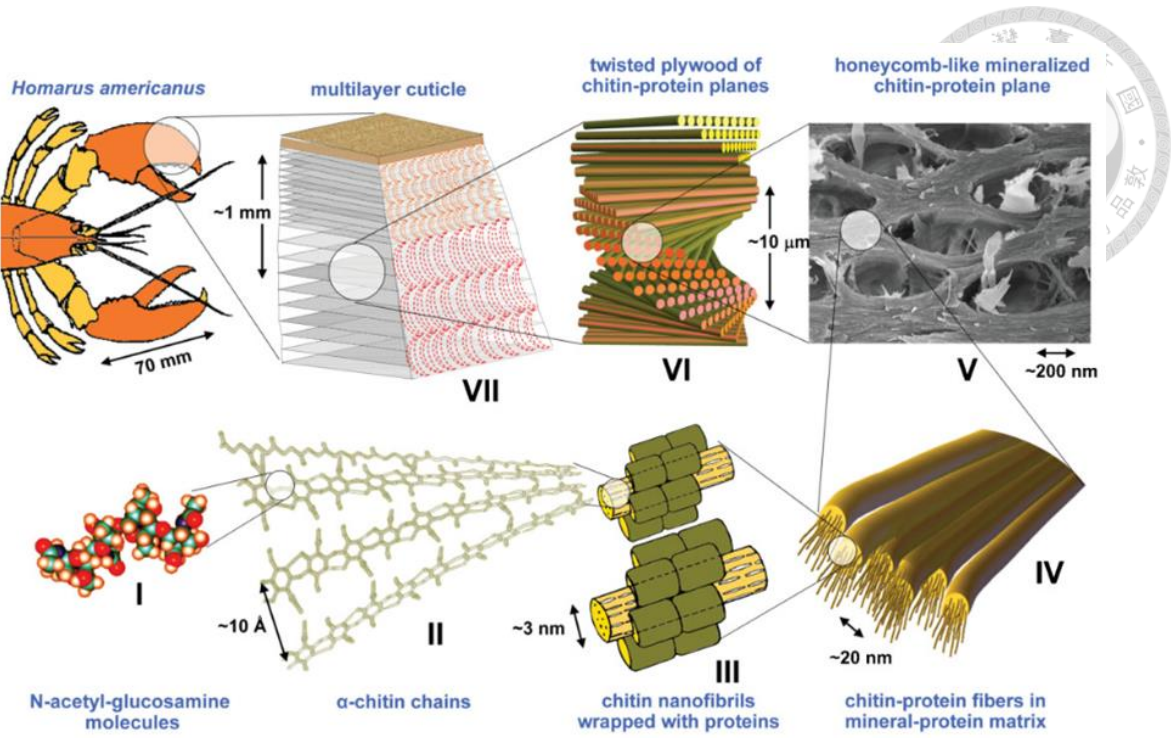


圖 1-1、甲殼類外骨骼在不同尺度下的結構組成示意圖[29]

1.2.2 可注射的自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠

可注射水膠吸引人的地方在於他們可以在任何尺寸以及形狀下組織缺陷提供細胞支撐效用，並且造成侵入性較小的細胞輸送過程。然而，許多一般的可注射水膠具有不可控制的成膠時間的問題。當水膠成膠速度太慢，容易使水膠所運輸的細胞或是藥物的流失而降低療效；而當水膠成膠速度太快則是容易造成水膠容易因為成膠後機械性質太強而不易通過針筒而造成堵塞[16]。而自癒合水膠這一系列的智慧型水膠的出現引起了大家的注意。

水膠的機械性質對於幹細胞的再生有著重大的影響力。神經幹細胞在神經系統中可以分化成神經元以及神經膠質，為神經再生的來源。攜帶神經幹細胞的物質的機械性質的軟硬程度會對其神經元以及神經膠質的分化造成重大的影響[16]。因此，可以透過控制水膠的機械性質來控制神經幹細胞的增殖以及分化。而具有適當機械性質的自癒合 GC 水膠已經用在被治癒中樞神經系統的缺陷的研究中。幾丁聚醣具有無毒性、生物可降解性、生物相容性以及價格低廉等等優點而廣泛應用在生物醫學領域中。另一方面，已經有文獻指出幾丁聚醣作為生醫材料有促進神經幹細胞再生的功用[16]。因此，把神經幹細胞放入具有自癒合功能的幾丁聚醣水膠中，可以提高神經幹細胞的再生效率。在自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠中，其自癒合機制的運作是利用動態共價化學的希夫鹼鍵 (Schiff-base linkage)，使水膠中的 GC 上的胺基以及遙爪雙官能基聚乙二醇 (telechelic difunctional poly(ethylene glycol)，又稱 DF-PEG) 上的最末端的兩個羰基進行反應，形成交聯的動態共價鍵，如圖 1-2 所示。

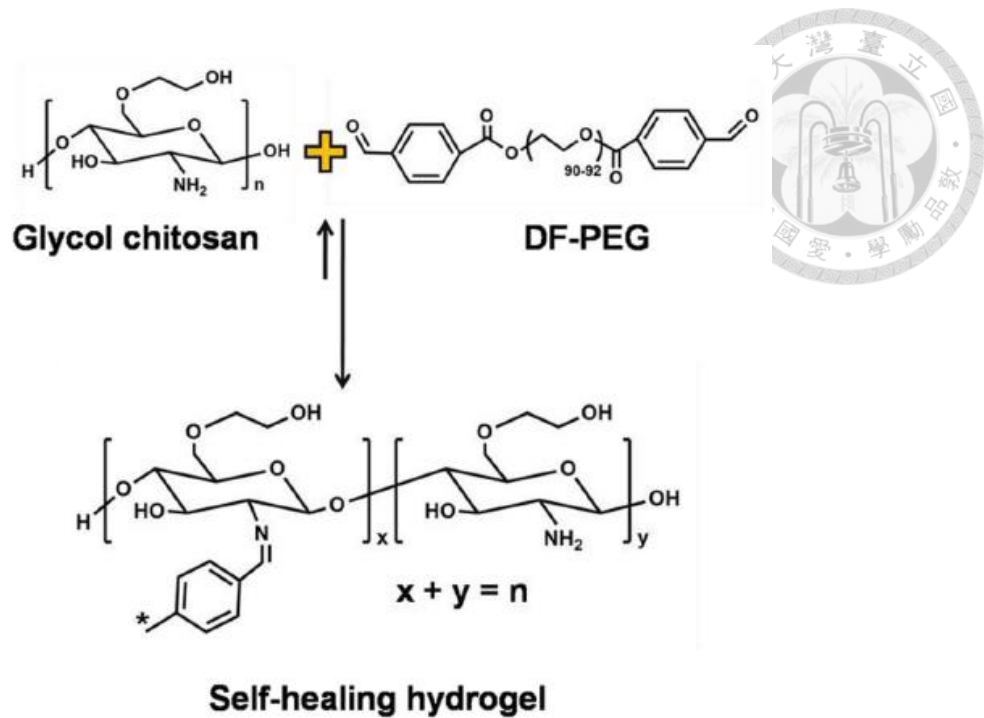


圖 1-2、自癒合機制的希夫鹼鍵形成示意圖[16]

而自癒合水膠的硬度是可以透過調整水膠中的聚合物濃度以及交聯劑數量來調整的。因此在自癒合 GC 水膠用於治癒中樞神經系統的缺陷的研究中，其比例已經被研究者進行了諸多的研究以及成分優化。最後發現到最適合的比例為 1.5wt% 的 GC 以及 1.0wt% 的 DF-PEG[16]。而在這個研究中，具有相同機械強度的藻酸鹽 (alginate) 水膠被用來作為實驗的對照組。在圖 1-3A 中，比較有自癒合功能的 GC 水膠以及無自癒合功能的藻酸鹽水膠，圖中可以明顯看到具有自癒合功能的 GC 水膠在經過 12 小時後，把原本中間的空洞部分修補起來而毋需外部的干涉。而在圖 1-3B 中則是明顯比較出來，藻酸鹽水膠注射所需的針頭孔徑遠比自癒合 GC 水膠所需要的孔徑來的更大。

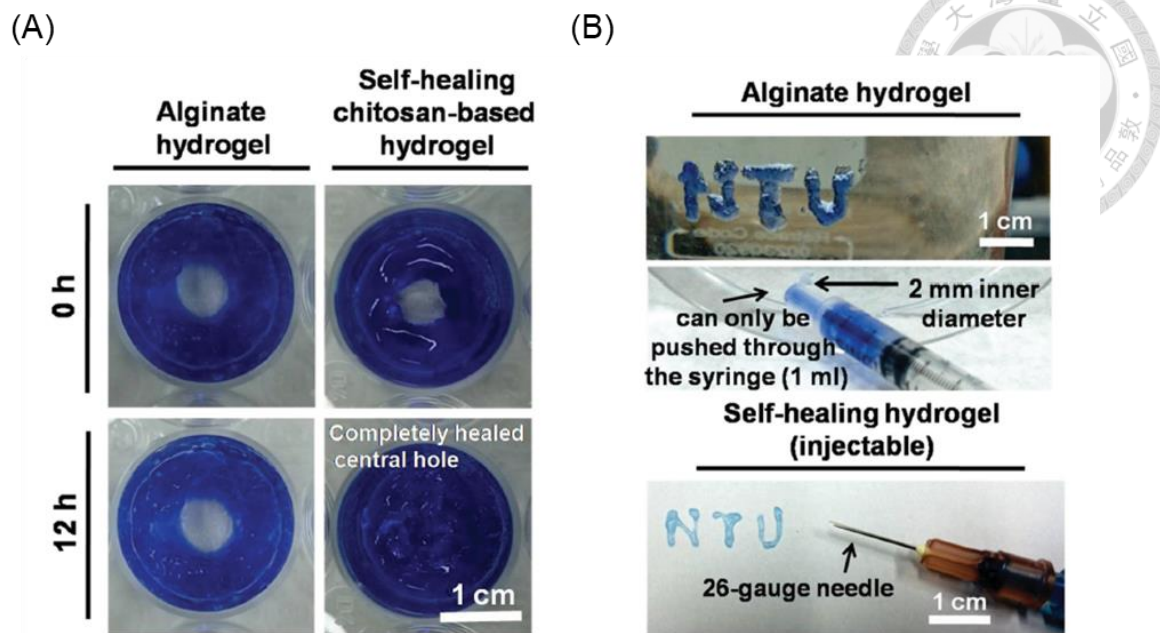


圖 1-3、有無自癒合功能比較圖(A)自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠與藻酸鹽水膠癒合情況比較(B) 自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠與藻酸鹽水膠個別注射所需針頭孔徑

[16]

除了可以明顯的從外觀看到自癒合 GC 水膠以及藻酸鹽水膠之間的差別，同樣的在機械性質方面兩者也有著明顯的差別，如圖 1-4 所示。圖中可以清楚看到藻酸鹽水膠在給予一個應力加以破壞之後，將應力拿掉之後藻酸鹽水膠的儲量模量 (G') 明顯低於原本所具有的值，代表結構受到嚴重破壞而無法恢復完全。至於自癒合 GC 水膠在經過同樣的應力重複施放之後，其 G' 依然與原本所具有的值幾乎相同，代表其因為自癒合緣故而保持住了其機械性質。這也代表著當此一水膠植入人體後，在人體中因為一些身體的運動或是外力的重複作用下，依然能夠維持住其機械性質而為細胞提供良好的支撐作用。

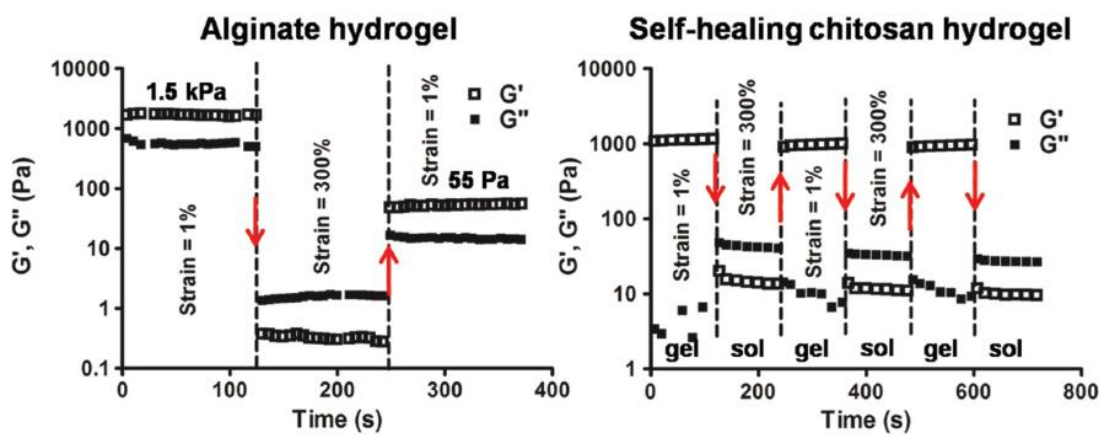


圖 1-4、自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠以及藻酸鹽水膠之間機械性質差異[16]

比較過機械性質之後，作為神經幹細胞的生長環境，自癒合 GC 水膠也表現出卓越的表現。在圖 1-5 中，神經幹細胞在自癒合 GC 水膠以及藻酸鹽水膠兩者中的增生情況比較，可以看到在自癒合 GC 水膠中的神經幹細胞球狀體增生數量遠大於在藻酸鹽水膠中。自癒合 GC 水膠相較於藻酸鹽水膠更能促進神經幹細胞增生。

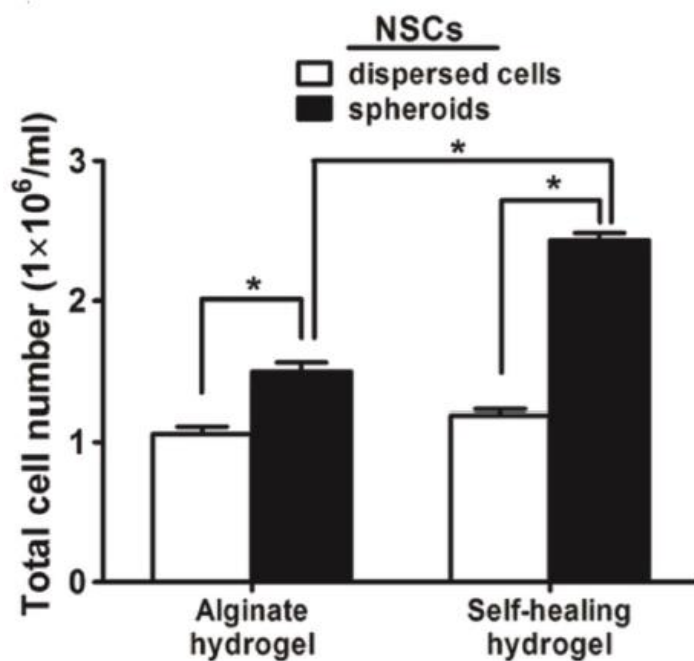


圖 1-5、神經幹細胞在自癒合乙二醇幾丁聚醣水膠以及藻酸鹽水膠中增生情況[16]

而在最後此研究還比較了在斑馬魚胚胎身上進行的生物實驗。在圖 1-6 中，橫軸在此表格中由左到右依序為正常的斑馬魚、有缺陷的斑馬魚、注入磷酸鹽緩衝

溶液的有缺陷的斑馬魚、注入自癒合 GC 水膠的有缺陷的斑馬魚、注入分散的神經幹細胞的有缺陷的斑馬魚、注入包覆在自癒合 GC 水膠中的分散的神經幹細胞的有缺陷的斑馬魚、注入包覆在自癒合 GC 水膠中的神經幹細胞球狀體的有缺陷的斑馬魚。可以清楚看到注入包覆在自癒合 GC 水膠中的神經幹細胞後，此有缺陷的斑馬魚的對於訊號的反應恢復程度明顯的高於其他有缺陷的實驗對照組。但就算只是注入自癒合 GC 水膠，同樣對斑馬魚的缺陷修復有著一定的幫助。而在斑馬魚胚胎的孵化率實驗比較中，同樣有著七組實驗比較，如圖 1-7。其表格中縱軸由下而上順序同圖 1-6 橫軸由左而右順序。可以看到結果與圖 1-6 相去不遠，注入包覆在自癒合 GC 水膠中的神經幹細胞球狀體的斑馬魚胚胎孵化率遠遠高於其他的對照組，而僅僅將入自癒合 GC 水膠同樣可以幫助孵化率的提升。

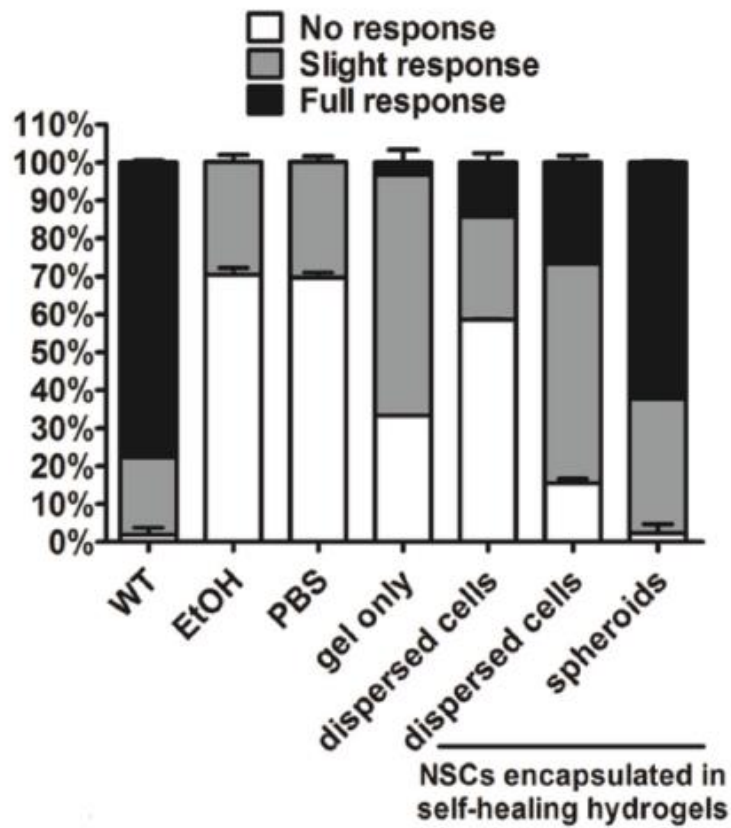


圖 1-6、在斑馬魚胚胎為 18 體節階段時比較其自發收縮反應[16]

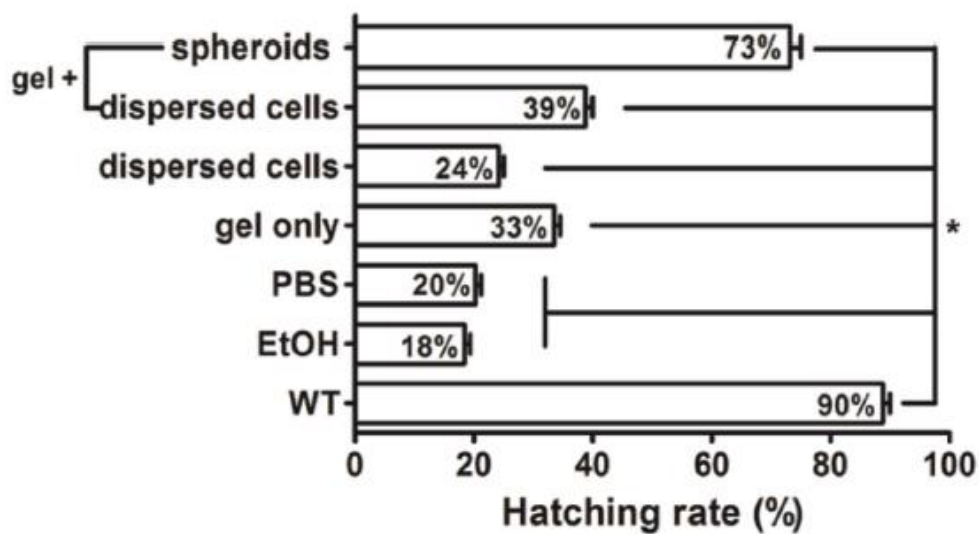


圖 1-7、斑馬魚胚胎的孵化率比較[16]

依據上述文獻回顧，文獻結果可以看到自癒合 GC 水膠具有良好的機械性質，透過適當的聚合物與交聯劑的濃度調整，可以使其成為適合裝載神經幹細胞的載體。並且 GC 在生物體中降解過後的產物對神經幹細胞是沒有危害性的。在斑馬魚胚胎實驗中，自癒合 GC 水膠也表現出卓越的功效幫助斑馬魚胚胎缺陷的修復，也使神經幹細胞在中樞神經修復方面的功效加倍進而遠大於單純只有使用神經幹細胞進行修復。



1.2.3 分子動力模擬

分子動力模擬是一種利用電腦計算，使我們能夠在奈米尺度下研究材料之性質的一種方法。而分子動力模擬的基本原理就是大家熟知的牛頓力學，透過電腦計算複雜的積分方程式，可以計算所有原子的運動軌跡，藉此來分析各種材料的性質。

此方法最初是在 1950 年後期發想出來的[32, 33]，並在理論物理學的領域中，不斷地被推導開發而出。但是在近幾年，分子動力模擬已被廣泛地應用於化學物理、材料科學以及生物分子建模領域中。分子動力學具有低成本、高安全性、研究速度快與高變異性等優點，適合用於模擬分析。除了上述優點外，分子動力模擬的結果還能與實驗結果進行比較，相輔相成。因此，它已逐漸地成為實驗技術中的一種強而有力的研究方法。以下是描述分子動力模擬的計算方法。

1950 年，分子動力學最初是由 Irving 與 Kirkwood 兩位學者所發表[34]。利用潛勢能方程式來描述分子間的受力，並且運用牛頓運動方程式計算出模型中每一顆原子的運動軌跡以及速度。最後，再利用統計熱力學來獲得分子相應的物理性質與動態特性。

如今，許多的不同力場 (force field) 已在許多領域被廣泛運用。力場的種類有很多種，如：Generic force fields、Biological force fields 以及 Class II force fields 等。其中，Biological force fields 又則是為了生物分子而開發的，例如：AMBER、CHARMM、CVFF (consistent valence force field)、PCFF (polymer consistent force field) 以及 GROMOS，上述的力場已廣泛地被利用在聚合物體系的分子動力模擬[35]，且其對於聚合物體的分析既簡單又快速準確。

而在過去的二十年，分子動力模擬也已經被利用在探討水膠的物理特性及結構上[36-42]，而其中幾丁聚醣也已經有許多人做過相關的分子動力模擬研究[43-48]。

1.3 研究目的

本論文的研究目的是利用分子動力模擬來研究不同質子化程度以及 DDA 程度下的 GC 水膠的分子結構以及其網絡的變化。本研究希望可以藉此了解 GC 水膠在不同 pH 環境下會有何種分子結構的反應變化。另外，本研究也加入了交聯劑 DF-PEG，比較加入交聯劑前以及加入交聯劑後的模型的差異，分析 GC 以及 DF-PEG 之間的作用關係，進而期望了解自癒合機制的運作與其之間的關聯性。

1.4 論文方向

首先，本論文第 2 章會解釋分子動力模擬的使用基礎，並介紹所選擇的力場以及模擬的設計條件。接著，再解釋 GC 水膠的建模方式與模擬過程，最後則是本次研究中所使用的分析方法。在第 3 章中，利用分子動力模擬，並透過氫鍵， R_G 與頭尾端距等分析，來分析不同的質子化程度下 GC 水膠的結構以及性質差異。在第 4 章中，首先會比較在不同質子化程度以及不同 DDA 程度下的 GC 水膠模型之間的結構差異，並與第 3 章的結果做一個整合與比較。接著，則是比較在不同質子化程度下，加入交聯劑 DF-PEG 到 GC 水膠模型中，分析其 GC 分子鏈以及 DF-PEG 間的作用關係以及黏度等性質。

第2章、 理論與方法



2.1 分子動力模擬

由 Allinger 等人所開發的傳統分子動力學的方法[49]，是將原子視為球體，並由勢能連接在一起組成。由系統中的所有鍵結能項（bonded）與非鍵結能項（nonbonded）的總和，所得到的系統總勢能[35]，公式如下

$$V(r) = V^B(r) + V^{NB}(r) \quad (2-1)$$

其中鍵結能項包含了鍵結伸縮項（bond stretch）、角度彎曲項（angle bending）還有二面角項（dihedral）。而二面角項在某些力場中又包含了不當扭轉項（improper torsion）與平面外之彎曲項（out-of-plane bending）。

鍵結伸縮項：

$$V^{bond}(r_{ij}) = \frac{1}{2} \sum_{bonds} k_{ij}^{bond} (r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (2-2)$$

其中 k_{ij}^{bond} 為鍵結伸縮參數， r_{ij}^0 則是原子間平衡時的鍵距。

角度彎曲項：

$$V^{bend}(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2} \sum_{bends} k_{ijk}^{bend} (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (2-3)$$

其中 θ_{ijk} 為平衡態的角度（平衡態為最小能量時）。

扭轉項：

$$V^{tors}(\phi_{ijkl}) = \frac{1}{2} \sum_{dihedrals} \sum_{n=1,2,\dots} k_{ijkl}^{tors}(n) [1 - \cos(n\phi_{ijkl})] \quad (2-4)$$

其中 n 為扭轉運動時的週期。

非鍵結能則包含了空間（steric）與靜電力項（electrostatic）。

空間：

$$V^{LJ}(\theta_{ijk}) = \sum_{i \neq j} \varepsilon_{ij} \left[2 \left(\frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^9 - 3 \left(\frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2-5)$$

其中 ε_{ij} 與 r_{ij}^0 是透過所有原子的參數組合而獲得。

靜電力項：

$$V^{es} = \sum_{i \neq j} \frac{f q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2-6)$$

其中 q_i 代表原子上的電荷。而 r_{ij} 代表 i 與 j 兩原子間的距離。而 $f = 1/\pi\varepsilon_0$ 中的 ε_0 則代表介電常數。



2.1.1 條件設計

在分子動力模擬中，物體(N)、體積(V)、能量(E)、溫度(T)和壓力(P)可以用來當作模擬的控制參數。並且，可以依據控制的參數分為三種模擬系統:NVE、NVT以及 NPT。

NVE，又稱作 microcanonical ensemble，此系統被假設為不與環境交換能量或粒子，為一個絕熱的系統，因此在模擬過程中總莫耳數 (N)、系統體積 (V) 以及總能量 (E) 為固定的，因此稱作 NVE。儘管整體系統內的每個成分都在運動，但整體能量與系統體積並不會改變。而簡單來說，NVE 被定義為在每一個微觀的系統中分配以 E 為中心的能量範圍，而在其他條件下的微觀系統存在機率為零。然而所有系統存在機率必須為 1，因此其機率 P 為微觀系統總數 W 的倒數。而當我們使能量範圍以 E 為中心逐漸減小，最後接近無窮小，在這個過程的最後，就獲得了 NVE。

NVT，又稱作 canonical ensemble，在熱力學中表示系統在固定溫度下的熱浴 (heat bath) 中進行熱平衡所可能存在的狀態，而在此時的能量可以進行交換，因此系統總能量不固定。而在狀態機率分布中的主要影響可以知道變因為絕對溫度 (T)，狀態機率分布 P 為

$$P = e^{F-E/RT} \quad (2-7)$$

其中 E 為微觀系統的總能量，R 為波茲曼常數。

除此之外，系統內的總莫耳數 (N)、系統體積 (V) 也會影響系統的內部狀態。當控制以上三個變因，就稱作 NVT。而式 2-7 的 F 為自由能，為一個常數。在不同的 N、V 以及 T 條件下，P 以及 F 也會有所變化。

NPT，又稱作 isothermal-isobaric ensemble。如同英文字面上的意思，此系統為一個恆溫恆壓的系統，在其中總莫耳數 (N) 也保持著定值。而此一系統在化學領域中扮演著重要的角色，因為多數的化學合成反應皆是在恆壓條件下進行。而 NPT 系統也可以用來測量壓力的維里 (virial) 膨脹無法被估算的模型的狀態方程式，或是近似一階的相轉變 (phase transitions) 函數。

不同的控制參數組合，代表著不同的物理意義。故選擇系統的控制參數在分子動力模擬中為一個重要的環節。



2.1.2 CVFF 力場

而在這次的模擬中，本研究選用 consistent valence force field(CVFF)來描述所有的原子[50]。CVFF 主要是應用於生物系統的力場，是 consistent valence force field 的原型。其後也衍生許多不同的力場（例如:PCFF 與 COMPASS）[35]。CVFF 力場中的勢能項目如式 2-8 所示：

鍵結伸縮（bond stretching）以及壓縮項（compression）、角度彎曲項(angle bending)、扭轉角旋轉項（torsion angle twisting）及平面外之變形項（out-of-plane deformation），還有四個交叉耦合項（鍵結和鍵結、角度和角度、鍵結和角度以及角度和扭轉）。最後還有非鍵結勢能:蘭納-瓊斯勢(Lennard-Jones potential)與庫倫作用力。在式子中使用到的參數有鍵結伸縮以及壓縮項的莫爾斯勢(Morse potential) (b)、角度彎曲諧波項(θ)、餘弦扭轉項(ϕ)以及平面外扭轉項(χ)。 D_b 、 H_θ 、 H_ϕ 以及 H_χ 是相應的分子內變形的作用力常數； b_0 以及 θ_0 分別是平衡的鍵結以及角度； F_{ij} 是交叉項的作用力常數； ϵ 以及 r^* 分別是非鍵結的排斥以及分散作用力的參數；而 q_i 是每個原子所帶的部分電荷[51]。由於 CVFF 描述聚合物之性質非常準確且可靠，本研究使用此力場描述所有的原子。其式如下：

$$\begin{aligned}
 E = & \sum_b D_b [1 - e^{-a(b-b_0)}] + \sum_\theta H_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_\phi H_\phi [1 + s \cos(n\phi)] + \sum_\chi H_\chi \chi^2 \\
 & + \sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0)(b' - b'_0) + \sum_\theta \sum_{\theta'} F_{\theta\theta'} (\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0) \\
 & + \sum_b \sum_\theta F_{b\theta} (b - b_0)(\theta - \theta_0) + \sum_\phi F_{\phi\theta\theta'} \cos\phi (\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0) \\
 & + \sum_\chi \sum_{\chi'} F_{\chi\chi'} \chi\chi' + \sum \epsilon \left[\left(\frac{r^*}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r^*}{r} \right)^6 \right] + \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \quad (2-8)
 \end{aligned}$$



2.1.3 週期性邊界條件

週期性邊界條件 (Periodic Boundary Conditions, PBC)，在分子動力模擬中是用來避免因為有限尺寸所引起的邊界效應問題，其思想是用一個稱為元胞 (cell) 的週期性盒子來描述宏觀的體系。此方法能使系統有如無限邊界系統，唯一的缺點是有可能發生的週期性效應[52, 53]。週期性邊界條件的代表意義為，當有任何原子從系統邊界右面離開時，就會有相同的原子從系統邊界的左面進入系統中。在圖 2-1 中，可以看到當有原子從這一面系統邊界離開時，就會有一粒相同的粒子從另一面進入系統中，元胞內的原子總數實際上是維持不變的。

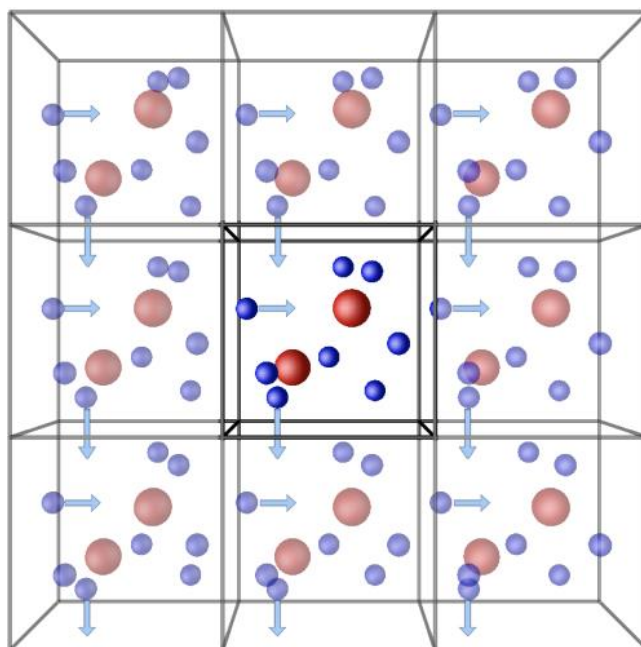


圖 2-1、週期性邊界條件示意圖

(<http://isaacs.sourceforge.net/phys/pbc.html>)

2.2 模型設計

本研究中主要建立了不同質子化程度下以及不同 DDA 程度下的 GC 分子鏈，而 GC 分子鏈在有無質子化以及有無去乙醯化的單體結構式如圖 2-2 所示。在幾丁質上，原本接有乙醯基的胺基，在經過去乙醯化後，轉變為幾丁聚醣；而幾丁聚醣上的胺基 ($-NH_2$) 具有可以質子化的性質，在質子化後帶有正電 ($-NH_3^+$)。由前面的文獻回顧可以得知幾丁聚醣的 DDA 程度以及它的分子量大小是兩個影響幾丁聚醣性質的主要變因，而 GC 作為幾丁聚醣的衍生物，同樣也受到這兩個性質的影響。因此，為了決定本研究模型中的 GC 分子鏈的分子量大小，這裡參考了多個與幾丁聚醣相關的分子動力模擬的研究文獻[46-48]，建立了單條為 20 個單體(約 583 個原子數)的 GC 分子鏈。

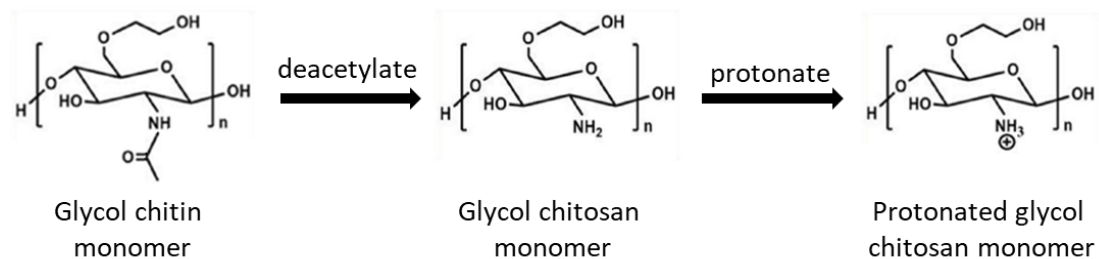


圖 2-2、乙二醇幾丁質經由去乙醯化後變成乙二醇幾丁聚醣，再經由質子化使胺基帶有正電

而本研究針對 GC 分子鏈所要探討的方面為質子化程度以及 DDA 程度的影響，GC 單體之間主要是以 β -(1-4) 的連接方式形成分子鏈，連接方式及結構如圖 2-3A 所示，這是大自然中的幾丁聚醣以及幾丁質最常見的連接方式。而在質子化程度的探討方面，本研究建立了六個不同的質子化程度下的 GC 分子鏈來進行後面模擬建構，如圖 2-3B 所示。圖中從上而下依序為質子化程度為 0%、20%、40%、60%、80% 以及 100%。而研究中選定的質子化的單體位置主要是參考 Borca 跟 Arango 的研究中建立不同質子化程度的幾丁聚醣分子鏈的方式[46]。本研究令質子化後的單體平均分散在整條分子鏈上，使整條的帶正電分布盡量為對稱且平均的。而在不同 DDA 程度的探討方面，建立模型的手法與前者相同，主要建立的 DDA 程度分別為 100%、80% 以及 60%，並分別在這些 DDA 程度下建立不同的質子化程度，



分別為圖 2-3B、C 以及 D。在不同 DDA 程度下，尚未去乙醯化的幾丁質單體位置選擇也如同前面選擇質子化程度位置的手法，使其平均分布在整條分子鏈上。

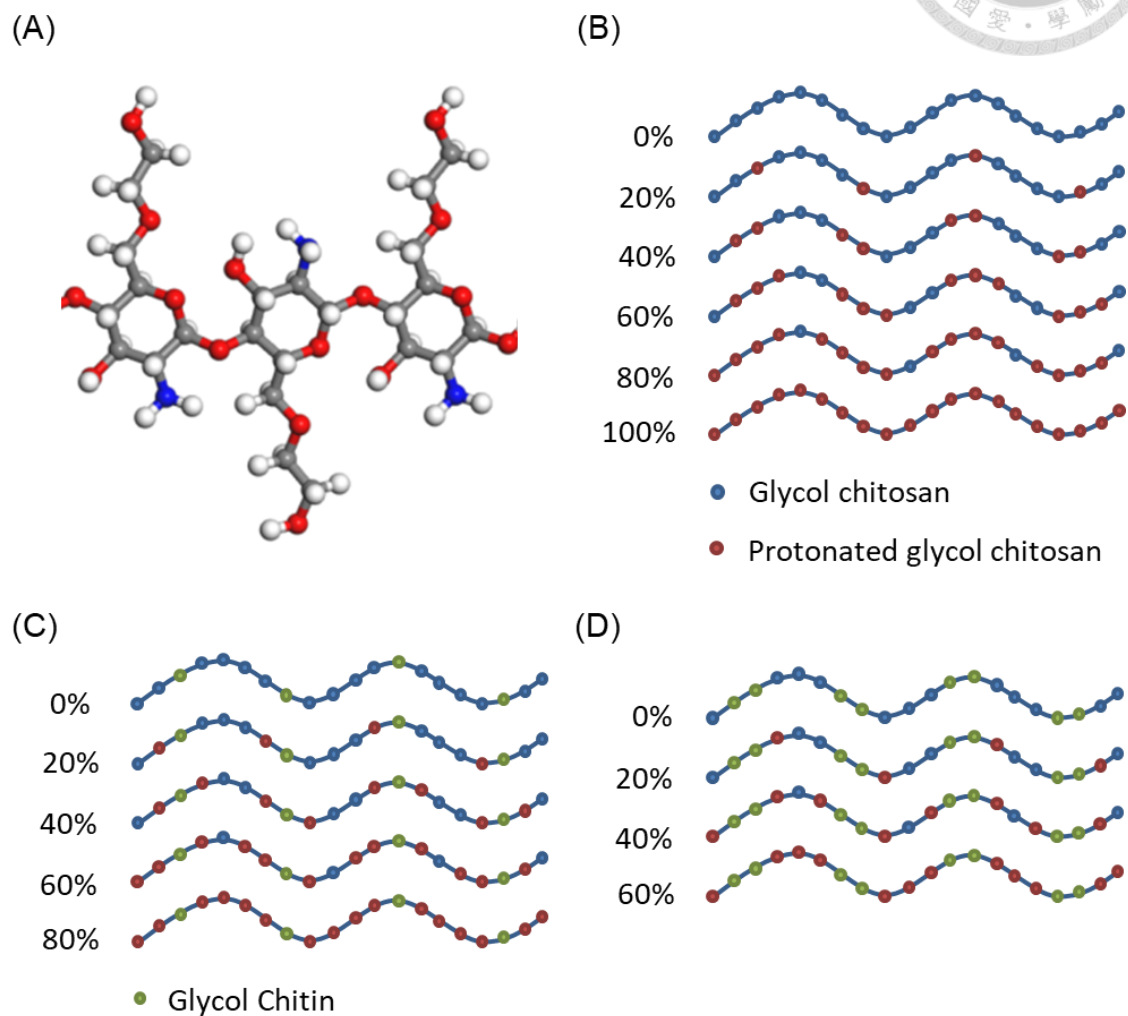


圖 2-3、(A) 乙二醇幾丁聚醣單體連接立體結構圖(B) 去乙醯度為 100%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖(C) 去乙醯度為 80%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖(D) 去乙醯度為 60%時，不同質子化程度的乙二醇幾丁聚醣分子鏈示意圖

2.3 模擬流程

當決定了 GC 分子鏈的 DDA 程度、質子化程度以及單條單體數之後，本研究利用 Materials Studio 程式軟體來將以上條件下的單條 GC 分子鏈依據先前設計的比例分別建立出來，如圖 2-4A。而這裡同樣還利用 Materials Studio 建構了 DF-PEG 單條分子鏈，為之後模型建構的組成之一，如圖 2-4B。接著利用 Materials Studio 中的 Amorphous Cell 工具[54]，依據能量最小化與結構優化建立出具有單條或多條的隨機分布的 GC 分子鏈模型。最後，再透過 CVFF 力場計算每個原子的能量並建構在具有隨機分布的 GC 分子鏈的 PBC 盒子中，如圖 2-4B。而在所有的模型中，由於質子化關係使質子化後的胺基帶有正電，為了平衡整體系統的電荷，本研究在系統中加入了氯離子 (Cl^-) 去中和帶正電的胺基 ($-\text{NH}_3^+$)。

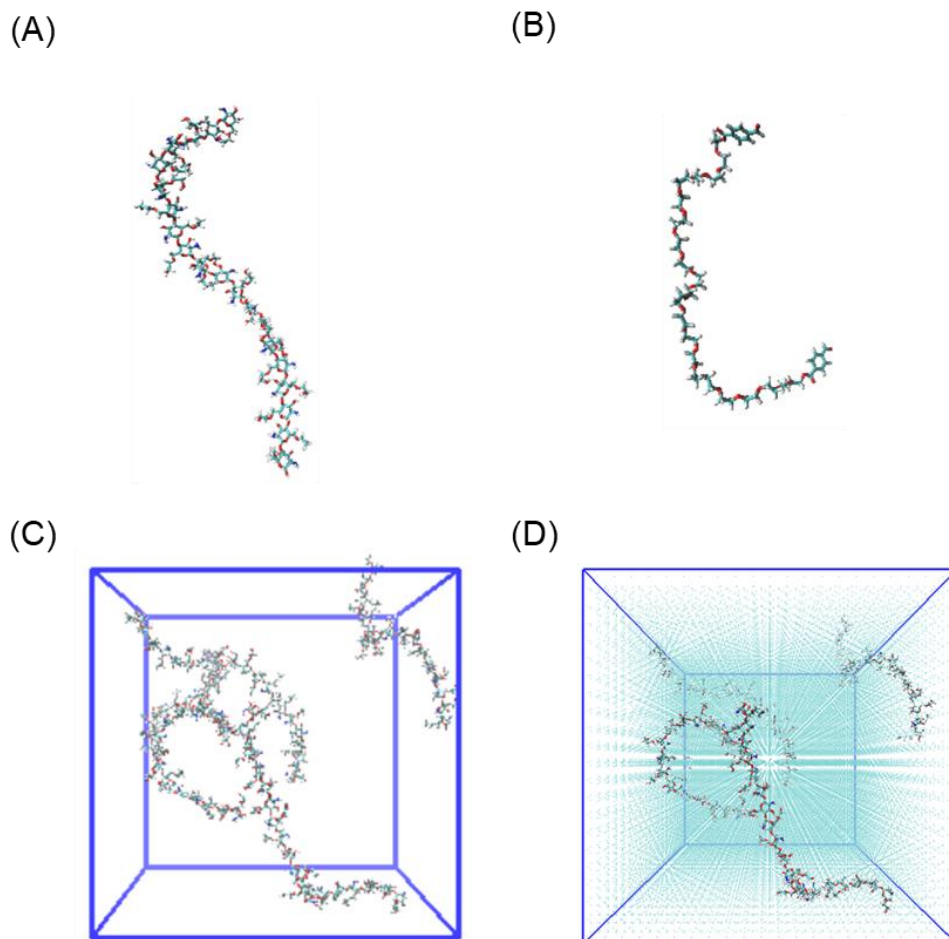


圖 2-4、模型 VMD 截圖(A)單條乙二醇幾丁聚醣分子鏈結構(B)單條遙爪雙官能基聚乙二醇分子鏈結構(C)多條乙二醇幾丁聚醣分子鏈隨機分布在真空環境下(D)多條乙二醇幾丁聚醣分子鏈隨機分布在水中

因為本研究主要探討不同質子化程度以及不同 DDA 程度的 GC 分子鏈在水中的結構與性質差異性，故最終本研究會將前面所建立好的模型浸泡在周圍皆為水分子的環境中，如圖 2-4C。並依據本研究探討的問題，模擬會分成四組模型。而在這裡進行模擬所使用的分子動力模擬軟體為 lammmps。



2.3.1 不同質子化程度下的多條乙二醇幾丁聚糖分子鏈在水溶液中

為了瞭解 pH 改變造成的 GC 分子鏈的質子化程度的改變會對 GC 分子鏈在水膠中結構特性所造成的影響，本研究將前述圖 2-3B 所建立起來的 DDA 程度為 100% 且六個質子化程度下的六種 GC 分子鏈，依照圖 2-4 所介紹的手法，個別複製成五條隨機分布並且浸泡在水中。而 GC 在水中所佔的固份含量，這裡參考了徐善慧教授研究室一篇有關 GC 自癒合水膠的研究發表裡的 GC 固份含量[16]，並且考慮了模型模擬所需耗費的時間，最後將模擬中 GC 分子鏈在水中的固份含量定為 3wt%，總原子數約為 110000 個原子。當建立了好了六個不同質子化程度的 GC 水膠模型後，這裡先將模型進行能量最小化，之後在 450K 的 NPT 條件下模擬 2 ns，此步驟的目的為加速平衡；之後將溫度降為 300K 後再模擬 10 ns 以達到平衡。達到平衡後，在同樣條件下繼續模擬 5 ns 並將這段進行分析以及探討。

2.3.2 不同質子化程度下的單條乙二醇幾丁聚糖分子鏈在真空環境中

在建立了 DDA 程度為 100% 且六個質子化程度下的六種 GC 水膠模型後，為了瞭解水與 GC 之間的作用關係，本研究在這裡還建立了 DDA 程度為 100% 且六個質子化程度下的單條 GC 分子鏈在真空環境下的模型。在建立了六個質子化程度下的單條 GC 分子鏈後，這裡會先利用 Visual Molecular Dynamics (VMD) 軟體[55] 將模型三軸方向增加一層真空夾層，以避免 GC 分子鏈因為週期性邊界條件而使 GC 分子鏈彼此之間有交互作用。本研究先將三軸長度設為 $x = 20.0$, $y = 20.0$, and $z = 20.0$ nm，之後在 300K 的 NVT 條件下模擬 10 ns 以達到平衡；並在平衡後繼續模擬 5 ns 並且將這 5 ns 進行分析。

2.3.3 不同去乙醯度下的乙二醇幾丁聚糖水膠在不同質子化程度下

最前面本研究已經建立了 DDA 程度為 100% 且六個質子化程度下的六種 GC

分子鏈，而在這裡還要額外建立兩種不同 DDA 程度下的 GC 水膠模型，DDA 程度依序為 80% 以及 60%。兩種 DDA 程度在不同質子化程度下的 GC 分子鏈建構依序分別依照圖 2-3C 以及 D。同樣依照圖 2-4 所介紹的手法，個別複製成五條隨機分布並且浸泡在水中，GC 分子鏈同樣占固份含量 3wt%。當建立了好了兩種 DDA 程度下，不同質子化程度的 GC 水膠模型後，這裡依樣先將模型進行能量最小化後，在 450K 的 NPT 條件下模擬 2 ns 以加速平衡；之後將溫度降為 300K 後再模擬 10 ns 以達到平衡。達到平衡後，在同樣條件下繼續模擬 5 ns 並取這段進行分析以及探討。

2.3.4 不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚糖水膠加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇

這裡的模型本研究將前面所建構的 DDA 程度為 100% 且六個質子化程度下 GC 水膠模型，加入交聯劑 DF-PEG 以分析自癒合機制的運行與 DF-PEG 以及 GC 分子鏈兩者之間作用力的關係。同樣依照圖 2-4 所介紹的手法，將 GC 個別複製成五條隨機分布並且浸泡在水中，GC 分子鏈同樣占固份含量 3wt%，而 DF-PEG 分子鏈占固份含量 2wt%，因總共 11 條，這裡 GC 與 DF-PEG 之間的比例也是按照徐老師研究室一篇有關 GC 自癒合水膠的研究發表中的比例[16]。這裡一樣先將模型進行能量最小化，之後在 300K 的 NPT 條件下模擬 5 ns 並進行分析。



2.4 分析方法

2.4.1 迴轉半徑 (radius of gyration, 簡稱 R_G)

R_G 是測量高分子的複雜結構的尺寸的一個重要指標。迴轉半徑的定義為 GC 分子鏈上所有原子到 GC 分子鏈質心的平均距離，如圖 2-5。其公式為：

$$R_g = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (|\vec{r}_i - \vec{r}_{cm}|)^2} \quad (2-8)$$

其中 \vec{r}_i 為第 i 個原子的座標位置， \vec{r}_{cm} 則為質心的座標位置。

這裡的分析方法為利用視覺化軟體 VMD 中的 Tk Console 指令: `measure rgyr`，去分析所有 GC 分子鏈的迴轉半徑，而 R_G 平均值取平衡後的 5 ns。

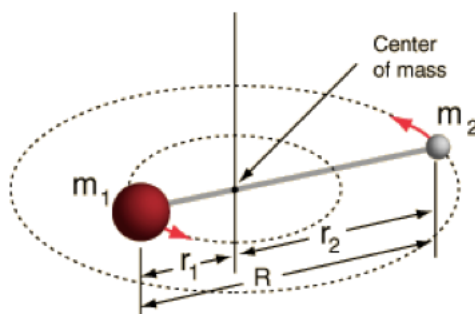


圖 2-5、 R_G 示意圖

2.4.2 頭尾端距 (end to end distance)

頭尾端距為一個常用來描述聚合物型態的參數。主要是測量聚合物分子頭尾兩端的距離，以表示聚合物的撓度，進而判斷高分子的柔軟度。同樣地這裡也利用 VMD 軟體，可以得到特定原子的座標，並計算兩原子間的距離。而在本研究中選擇 GC 分子鏈兩端的羥基作為頭尾。此兩個原子的距離，即為頭尾端距，如圖 2-6。而頭尾端距平均值取平衡後的 5 ns。

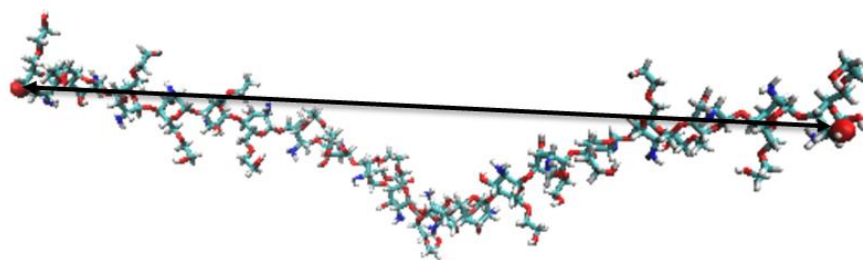


圖 2-6、頭尾端距示意圖 (紅色球為氧原子，黑線為頭尾端距，模型: 乙二醇幾丁聚糖分子鏈)

2.4.3 徑向分布函數 (radial distribution function, 簡稱 RDF)

RDF 是一個相當重要的原子結構度量的指標之一。可以用來觀察局部區域原子或小分子，甚至是高分子在局部空間中排列以及堆疊的情況，以幫助分析局部分子排列。其定義為選擇一個原子或分子做為中心後，以球殼的方式一層一層向外計算另一個所選原子的分布情況，如圖 2-7。其計算公式如下：

$$g(r) = \lim_{dr \rightarrow 0} \frac{p(r)}{4\pi(N_{pair}/V)r^2 dr}, \quad (2-9)$$

$$N_{pair} = N_1(N_1 - 1), \quad (2-10)$$

$$N_{pair} = N_1 N_2, \quad (2-11)$$

其中 r 是所選兩個原子對之間的距離， $p(r)$ 則是在 r 到 $r + dr$ 之間所找到的平均原子對數； V 則是整個系統的體積，而 N_{pair} 則是根據式 2-10 以及 2-11 所有的特殊情況。式 2-10 以及 2-11 適用情況為 sel_1 與 sel_2 完全相同，或是 sel_1 與 sel_2 完全不相同的時候。

本研究分析方法為利用視覺化軟體 VMD 中 Analysis of Radial Distribution Function $g(r)$ tool 來進行分析[56]，分析範圍為平衡後的 5 ns。

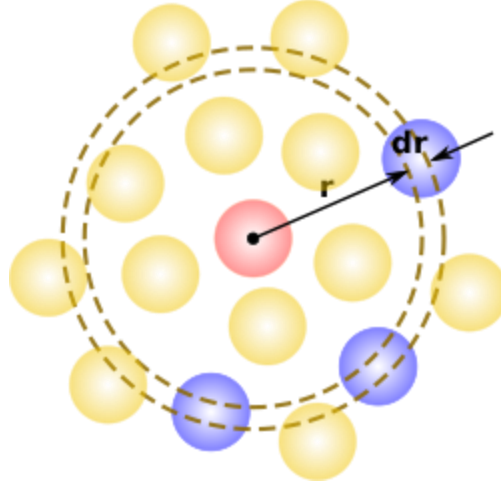


圖 2-7、RDF 示意圖

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rdf_schematic.svg)

2.4.4 氫鍵

氫鍵是分子間作用力的一種，是一種永久偶極之間的作用力，在分子水膠中扮演著一個重要的角色[40, 41]。在分子動力模擬中定義兩原子在特定角度與距離參數內，即產生氫鍵，如圖 2-8。而在本研究中，本研究利用 VMD 軟體中的

Analysis of Hydrogen bonds 工具分析氫鍵數，其設定條件為距離 3.5Å 與 30.0 度為氫鍵參數。而氫鍵數平均值取平衡後的 5 ns。

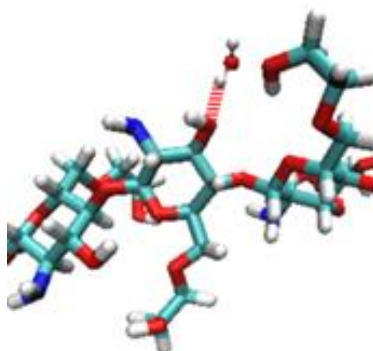


圖 2-8 氫鍵示意圖，乙二醇幾丁聚醣分子鏈與水分子形成氫鍵

2.4.5 黏度

這裡的剪切黏度 (shear viscosity) 在 Green-Kubo 方程式中根據壓力張量隨著時間的積分計算自相關函數 (autocorrelation function) 來獲得，其方程式如下[57]：

$$\eta = \frac{V}{k_B T} \int_0^{\infty} \langle P_{\alpha\beta}(t) \cdot P_{\alpha\beta}(0) \rangle dt \quad (2-12)$$

其中 V 為系統體積， k_B 為波茲曼常數， T 為溫度， $P_{\alpha\beta}$ 代表向量 $\alpha\beta$ 的壓力張量，而最外圍的尖括號代表整體平均值；這裡計算的向量 $\alpha\beta$ 為三， xy 、 xz 以及 yz 。理論上，在式 2-12 中隨著時間積分函數計算時間越長，本研究計算三個向量的剪切黏度會達到一個常數，之後再將這三個常數取平均值作為本研究的黏度值，方法如圖 2-9 所示。我們這裡以水的黏度為例子，將三個向量的剪切黏度經過時間的收斂後，會趨近一個穩定值，我們再將這三個數值進行平均，得到水的黏度為 0.37 ± 0.04 cp.

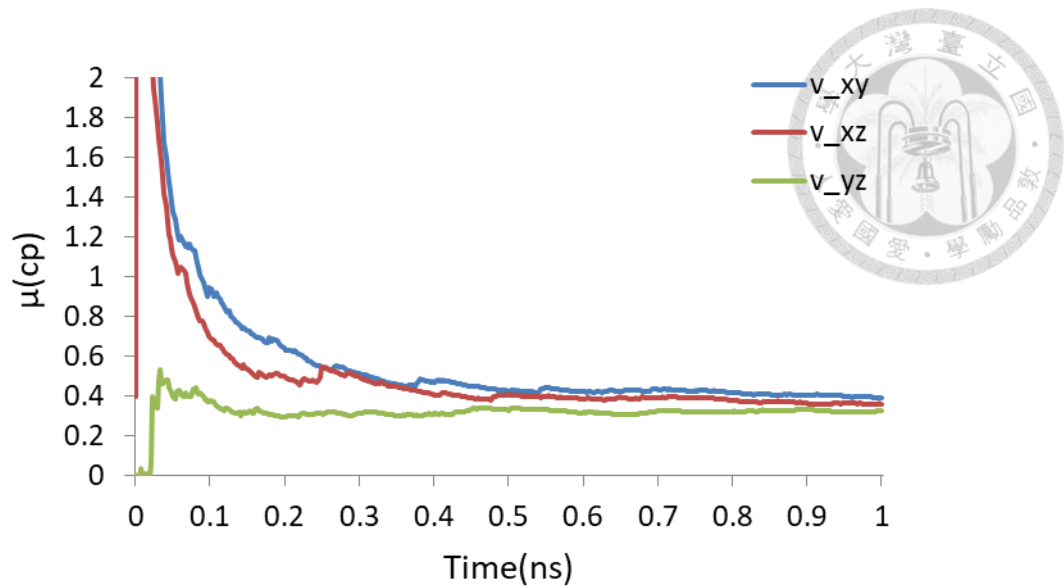


圖 2-9、水的黏度隨時間變化圖，藍色、紅色以及綠色依序為 xy、xz 以及 yz 向量

2.4.6 周圍原子個數

周圍原子數量其定義為，距離特定分子 5Å 範圍內的原子總數。本研究利用此分析方法，分析 GC 上的胺基以及 DF-PEG 頭尾兩端的羰基之間作用力關係，以推測自癒合機制的運行，如圖 2-9。

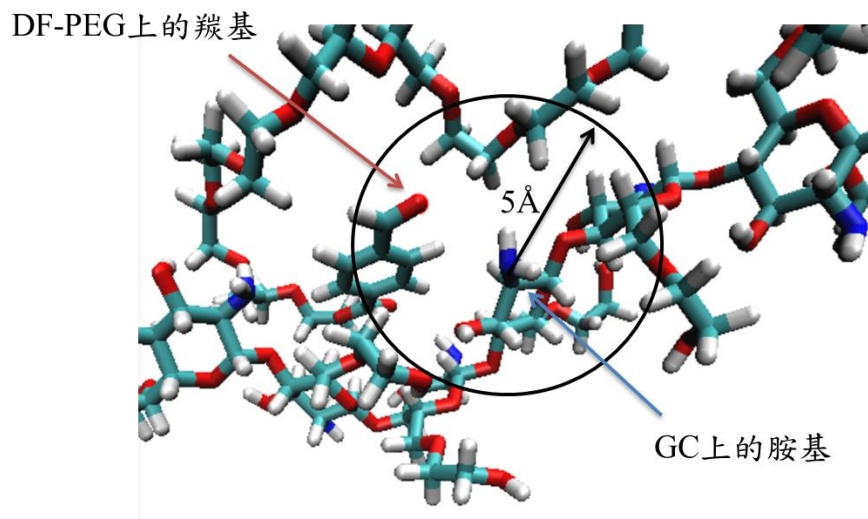


圖 2-10、乙二醇幾丁聚醣上的胺基周遭的遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端的羰基個數示意圖

第3章、 pH 對乙二醇幾丁聚醣水膠之影響

在本章節會分析 GC 水膠模型在不同 pH 情況下，pH 對 GC 在水膠中的分子結構特性與分布情況之影響以及 pH 對 GC 與水之間氫鍵特性影響。首先，本研究會先分析在 pH=7 的情況下 GC 水膠的一些物理特性，以判斷 GC 如何優於傳統的幾丁聚醣水膠。之後再分析 GC 水膠在不同 pH 情況下的頭尾端距、 R_G 、RDF 以及氫鍵來判斷其中的差異性。

3.1 乙二醇幾丁聚醣水膠在 pH=7 之分子結構特性

為了瞭解為何 GC 在 pH=6.5 以上的環境下，具有比傳統幾丁聚醣水膠還要良好的親水性並可以溶於水中，本研究首先分析了在 pH=7（質子化程度為 20%）的 GC 水膠模型的 R_G 。在 Carlos H. Borca[46]的研究中，其幾丁聚醣水膠中的幾丁聚醣為 20 個單體數並且 R_G 為 20 Å 在其幾丁聚醣的質子化程度為 20% 時。而在本研究的模型中，同為 20 個單體的 GC 在水膠中的 R_G 大約為 27Å，明顯大於幾丁聚醣。而為了確定是 GC 本身的主鏈部分較為延展，本研究將 GC 分子鏈在分子結構式上區分成了兩個部分， β -(1-4)-linked D-glucosamine 跟 glycol groups，如圖 3-1。研究中將中間連接的碳環主鏈以及其上所接的所有被劃分在紅色虛線內的分子皆稱為 β -(1-4)-linked D-glucosamine，而位於側鏈上的藍色實線內的乙二醇分子團稱作 glycol groups。在圖 3-2 比較了 β -(1-4)-linked D-glucosamine 以及 GC 整體的 R_G 值，可以明顯的發現兩者沒有太大的差異並且都是大約 27Å，這顯現了 GC 確實在主鏈上有所延展。而在水溶液中更為的延展代表了與水之間的作用力較強促成了較大的 R_G 值。

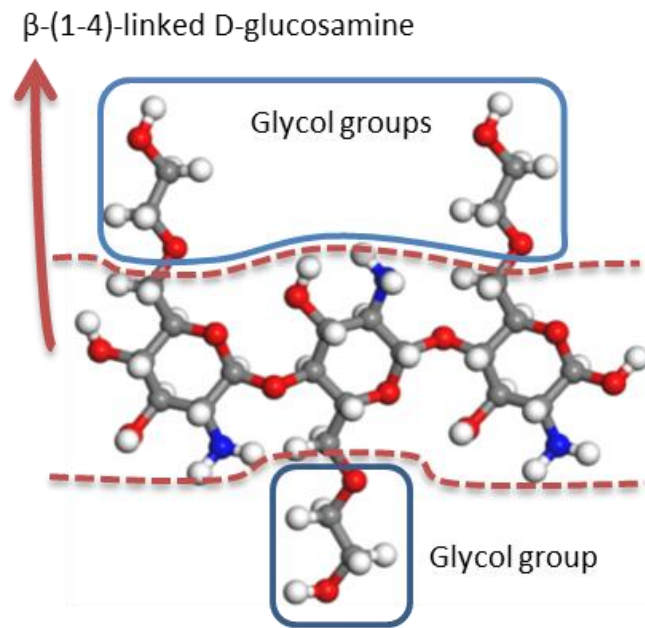


圖 3-1、乙二醇幾丁聚醣結構分類示意圖

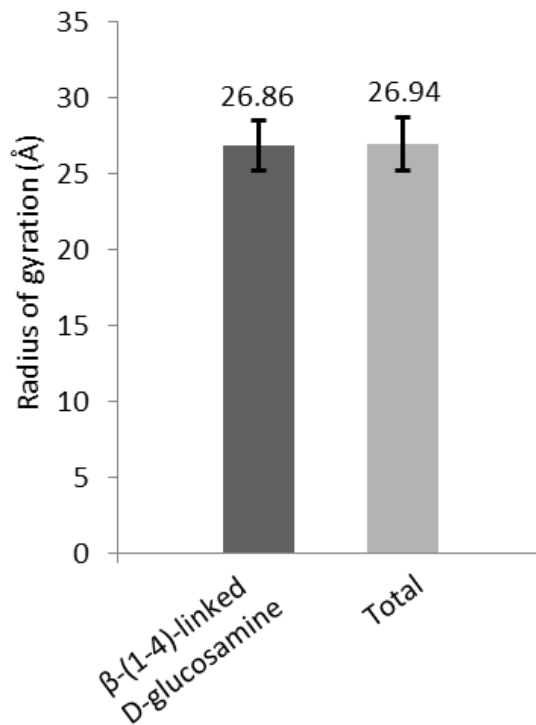


圖 3-2、乙二醇幾丁聚醣結構分類後不同部位 R_G 比較

在分析了 R_G 之後，本研究也分析了 GC 與水之間的氫鍵數。除了在前面用結構分子式進行的區分之外，在這裡也將 GC 可以與水形成氫鍵的官能基進行了區分，

如圖 3-3。本研究將位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 的醚基都稱作 O1-main、 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的羥基都稱作 O2-main、glycol groups 上的醚基都稱作 O1-side 以及 glycol groups 上的羥基都稱作 O2-side。另外本研究將 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的胺基稱為 N1，而質子化後帶正電的胺基則稱作 N2。圖 3-4 比較了 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上、glycol groups 上以及整體的與水間氫鍵，可以發現 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的與水間氫鍵數幾乎與 glycol groups 上的是相同的，代表加入了 glycol groups 會使與水間氫鍵數變成了兩倍。而 GC 側鏈上的 glycol groups 就像一隻手會去與水形成氫鍵並且更加容易去抓住水分子。與水之間更多的氫鍵數使 GC 相較於幾丁聚醣有更多與水之間的作用力，同時較大的 R_G 值代表了 GC 在水中更加的延展。這兩個結果呈現了 GC 相較於幾丁聚醣有更好的親水性，因此也更容易溶於水中有較高溶解度。

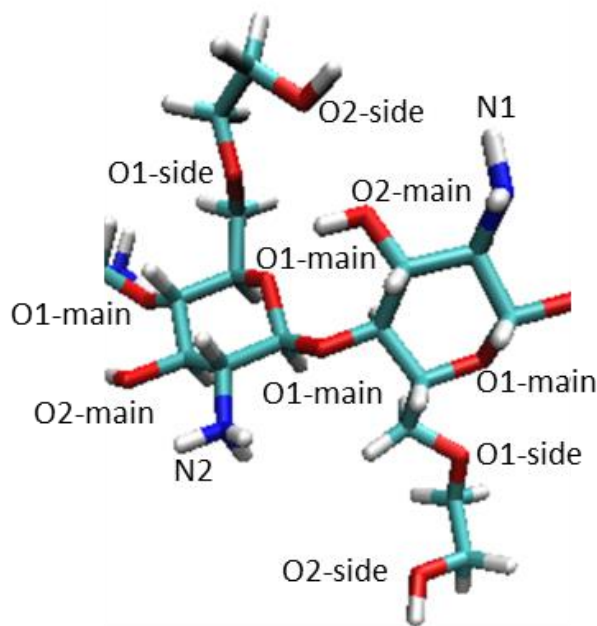


圖 3-3、乙二醇幾丁聚醣上與水形成氫鍵官能基分類示意圖

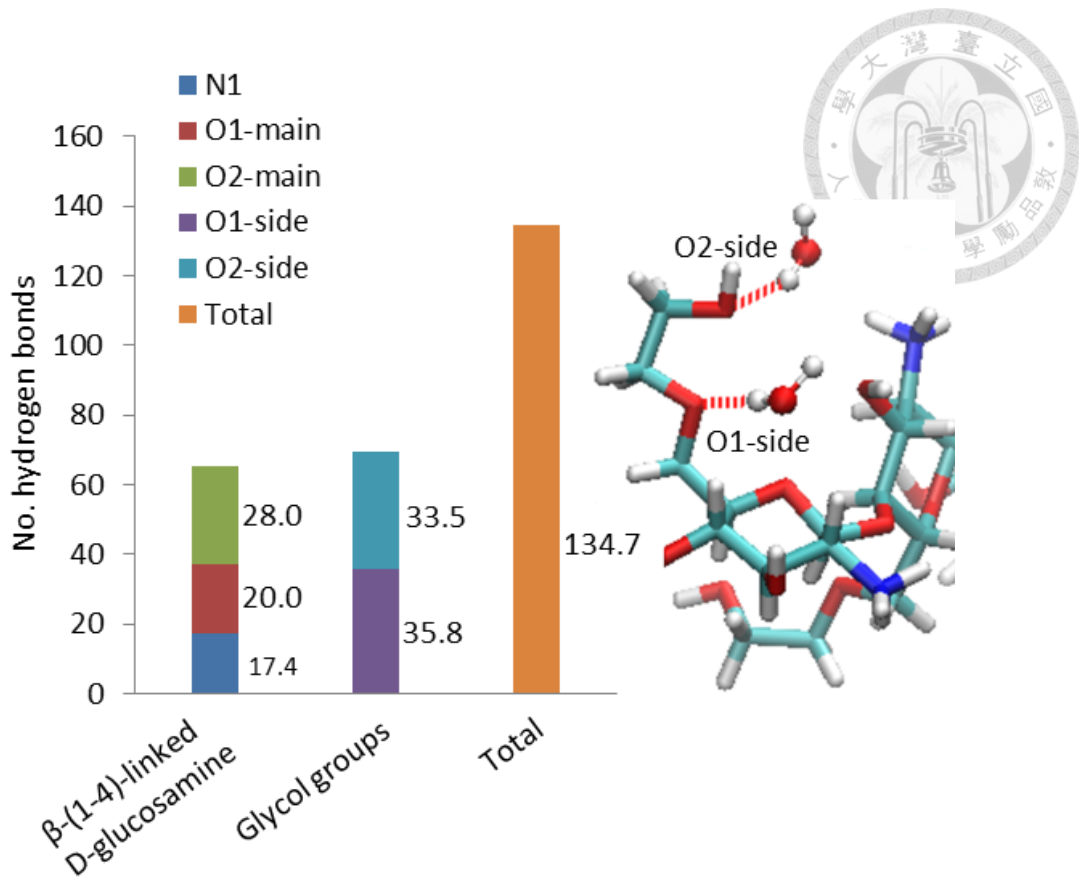


圖 3-4、乙二醇幾丁聚醣結構及官能基分類後各部位與水間氫鍵比較

3.2 pH 對乙二醇幾丁聚醣在水膠中的分子結構特性與分布情況之影響

在了解了 GC 為何比幾丁聚醣更親水並且溶解性更佳後，並要開始討論不同 pH 下 GC 的分子結構特性以及分布情況有甚麼變化。這裡，本研究首先分析了 GC 水膠在不同質子化程度下的頭尾端距以及 R_G 值，分別為圖 3-5、3-6。在圖 3-5、3-6 中，橘色的點皆為 GC 水膠模型的平均 R_G 值，而周圍的橘色陰影面積則是為在各個質子化程度下頭尾端距以及 R_G 於數據選取時間範圍中曾出現的最大值以及最小值之間的範圍。首先看到圖 3-5 中頭尾端距的分析，可以看出來在水膠中 GC 的平均頭尾端距值的範圍以及趨勢並沒有隨著 pH 值的改變有太大的變化。而在圖 3-6 的 R_G 的分析中同樣也看不出特別的趨勢與改變。由於從圖中水膠的部份無法於質子化程度變化中觀察到太大的差別，但為了更加了解結構特性與 pH 的關係，本研究將前面方法中所建立的單條 GC 在真空環境下的模型所分析的頭尾端距以

及 R_G 也分別一起放入圖中做比較。圖 3-5、3-6 中藍色的點即是真空下單條 GC 的平均頭尾端距以及 R_G 值，藍色面積所選取方法則是同 GC 水膠橘色面積取法，為各個質子化程度下頭尾端距以及 R_G 於數據選取時間範圍中曾出現的最大值以及最小值之間的範圍。

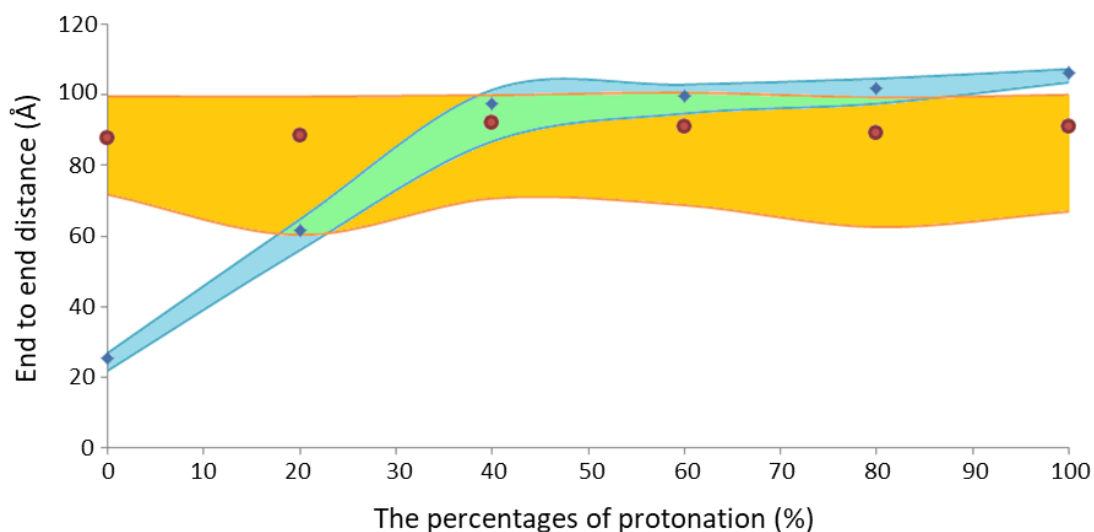


圖 3-5、乙二醇幾丁聚醣在水膠模型及真空中的頭尾端距隨質子化程度變化

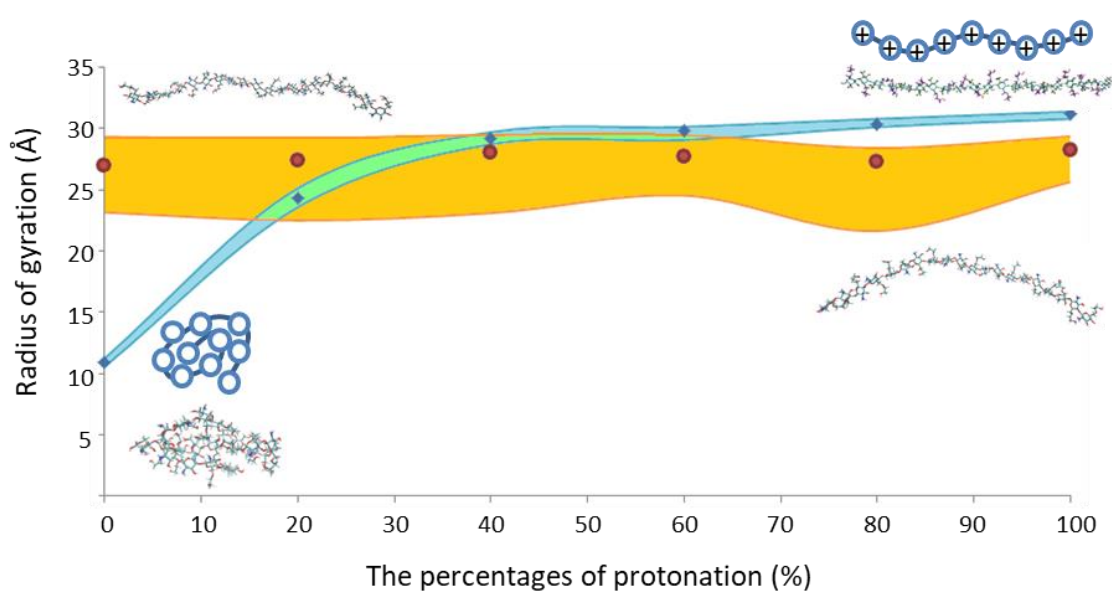


圖 3-6、乙二醇幾丁聚醣在水膠模型及真空中的 R_G 隨質子化程度變化

當直接看到真空環境下 GC 的分析數據，這裡可以直接發現在真空中的 GC 本身的頭尾端距以及 R_G 值會隨著質子化程度越高而越來越高，與在水膠中有著截然

不同的表現趨勢並且也顯著很多。真空中 GC 模型的結果說明了 GC 本身結構的型態除了受到凡得瓦力的影響外，也會受到靜電力極大的影響。本研究將真空中的 GC 表現結果與在水膠中表現結果一起做一個討論。在低質子化程度下，自身凡得瓦力佔主導地位使 GC 在真空環境下趨向於收縮，而在水膠中相對於在真空中則是呈現較延展的表現行為；在高質子化程度下，自身靜電力逐漸增加並佔主導地位而使 GC 在真空環境下變得更僵硬，而在水膠中相對於在真空中則是呈現稍微收縮的表現行為。這兩種在不同質子化程度下的表現行為都是由於同一件事情，水的屏蔽效應 (screening effect) [58]。水分子的存在會與 GC 產生其他的作用力，如凡得瓦力與氫鍵等等。而這些作用力會減少 GC 凡得瓦力對自身影響，同時也會屏蔽掉 GC 上帶正電的胺基彼此之間靜電力的影響。在低質子化程度時 GC 在水膠中比在真空中的來的伸展的表現結果顯現出了 GC 具有親水的特性；同時，GC 的頭尾端距以及 R_G 值在水溶液中以及真空中差異極大也表現出了低質子化程度 GC 的高柔軟性及水的極大影響力。

除了 GC 本身結構特性的變化之外，本研究也希望了解在不同的 pH 條件下，GC 在水膠的分布情況，如圖 3-7。在圖 3-7 中，先直接比較了在不同質子化程度，0%、20%、40%、60%、80% 以及 100% 的 VMD 影像截圖。圖中將模型中五條不同的 GC 分別用五種顏色進行區分以方便進行比較，分別為藍色、紅色、綠色、紫色以及灰色。在質子化程度為 0% 的截圖可以明顯看到五條 GC 分子鏈會聚集在一起變成一條纖維狀。而到了質子化程度 20% 以及 40% 時，條與條之間雖然還有接觸，但不如 0% 時聚集的那麼緊密。而到了 60%、80% 以及 100%，可以看到 GC 分子鏈彼此之間幾乎已經完全分散開了而沒有互相接觸。

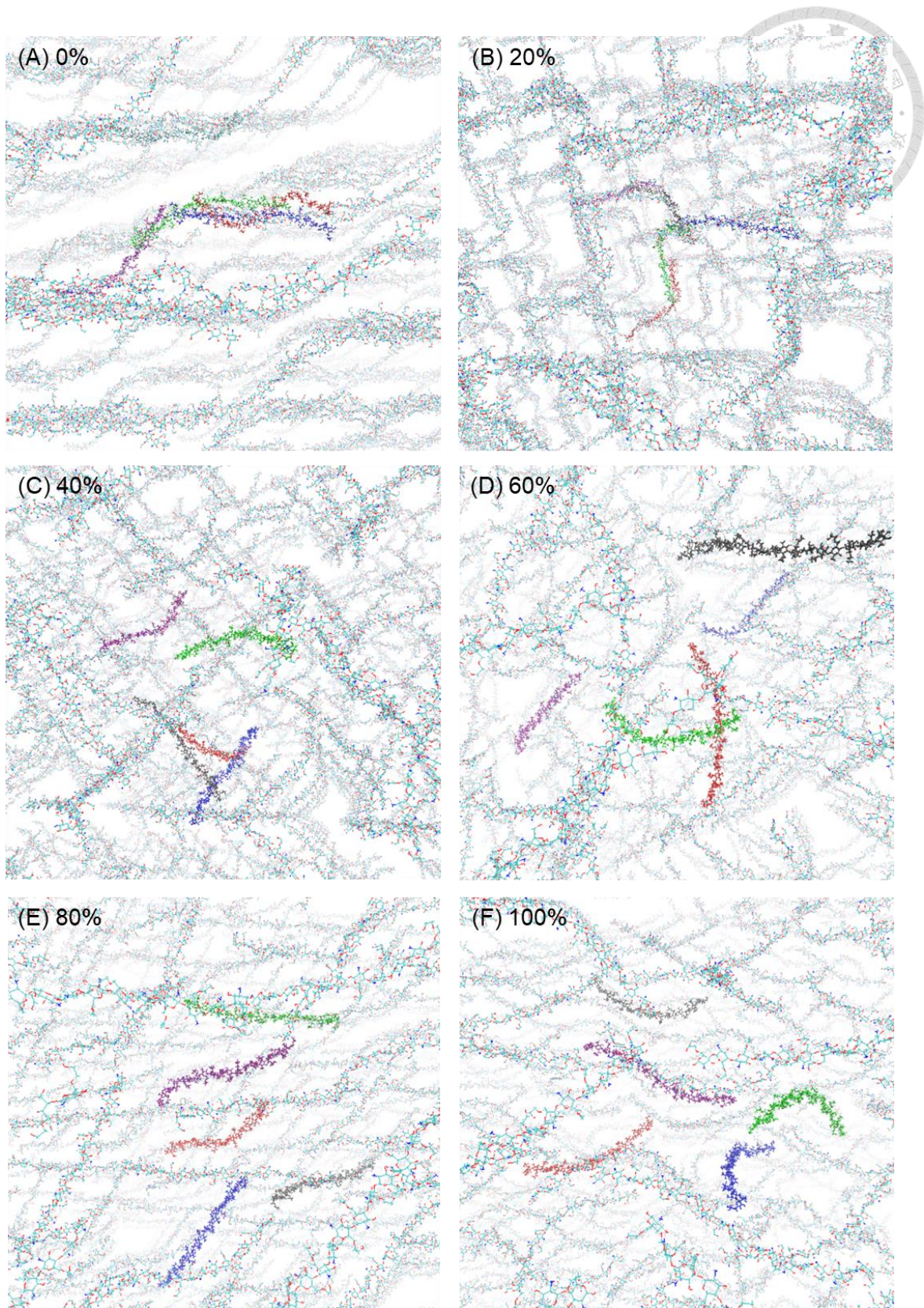



圖 3-7、去乙酰度為 100% 的乙二醇幾丁聚醣水膠模型在不同質子化程度下的 VMD 影像截圖



而目前只有用眼睛去觀察分散的變化而無法實際定量聚集以及分散兩種的行為的趨勢變化，而看起來似乎質子化程度 80% 以及 100% 並沒有太大的差別。為了更清楚的定量聚集以及分散這兩件現象的變化，本研究也分析了 GC 水膠的 RDF，如圖 3-8。在圖 3-8 的 RDF 分析中，可以很明顯地看到在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 時有一個明顯的峰值存在，這個峰值代表的意義為 GC 分子鏈彼此之間因為交互作用而產生了聚集的現象出現。再仔細比較不同質子化程度下峰值的變化，可以看到隨著質子化程度的上升，峰值也有一個明顯的下降的趨勢。質子化程度為 0% 有著最大峰值存在，GC 分子鏈形成一個纖維狀的聚集體；當質子化程度達到 40% 之後，峰值已經很明顯得下降到非常低的值，基本上聚集情況已經幾乎消失；而當質子化程度來到 100%。可以看出來沒有峰值的存在了，GC 分子鏈已經完全的分散開來。從上面的結果得知質子化程度為 100% 時，GC 分子鏈已經完全的分散來；同時，從其在 RDF 的變化趨勢中發現到在 55.4 \AA 的距離時質子化程度為 100% 有一個明顯的峰值存在，這代表 GC 分子鏈在水膠中彼此之間分散距離大部分落於一個均一的距離。而當我們把 GC 分子鏈假設成一個球並且是平均分散在同樣的水量下時，計算出來的距離差不多為 58 \AA ，與 56.6 \AA 非常的接近。為了更進一步了解分散的變化情形，本研究以 55.4 \AA 為中心，取 52.2 到 58.6 \AA 的範圍做線下面積的計算並將結果呈現在圖 3-8 下方。圖表中可以明顯地看到隨著質子化程度的上升，線下面積的值也隨之上升，再一次驗證了隨著質子化程度上升，聚集的情況逐漸消失，而分散的情況也越來越趨向平均的分布。而靜電力在高質子化程度（酸性環境下）時，相較於凡得瓦力，已經占據了主導的地位。

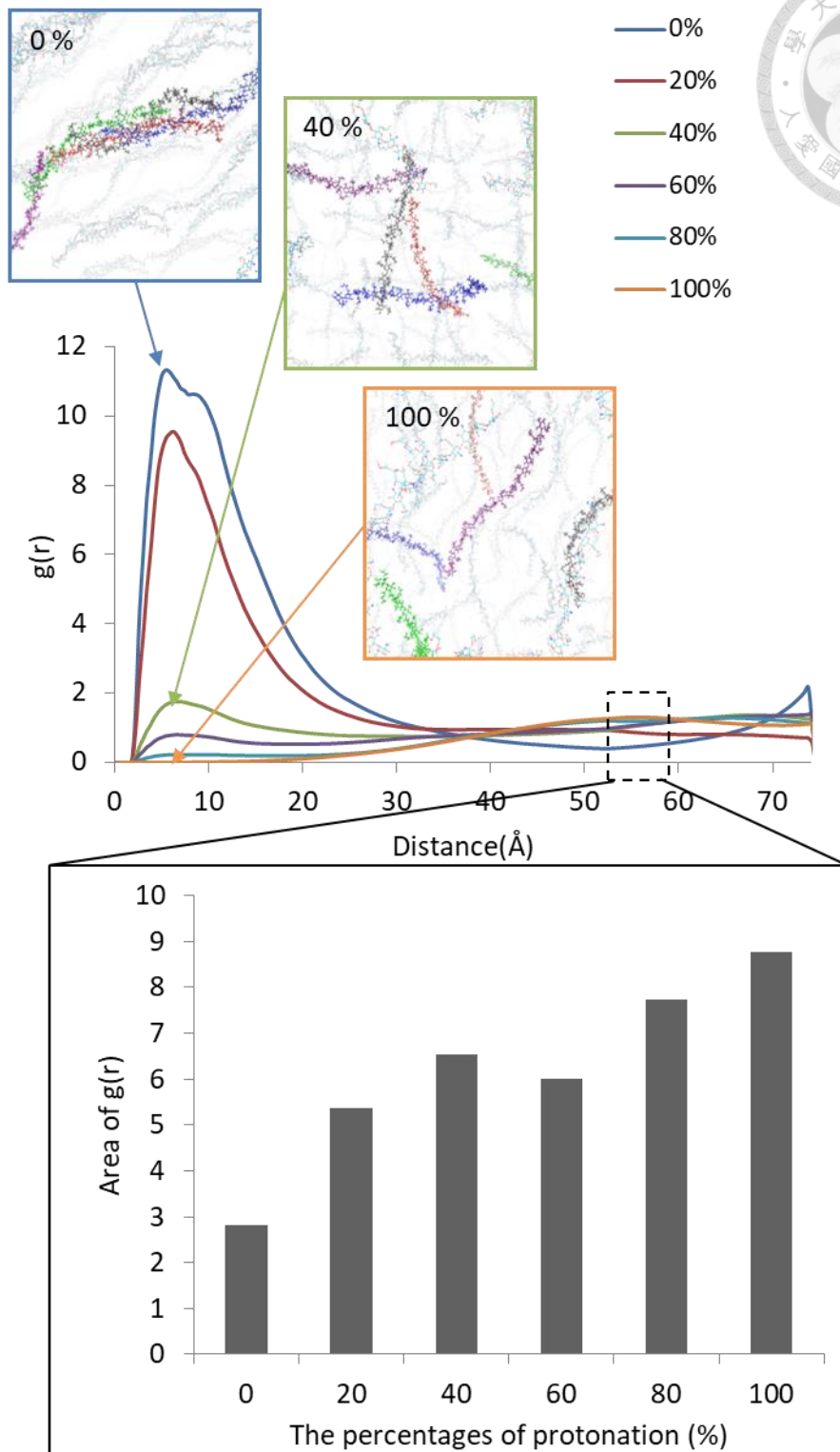


圖 3-8、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度之 RDF

本研究將以上的頭尾端距、 R_G 以及 RDF 的結果與一些先前實驗的結果進行比較，希望可以了解這些物理特性的分析結果與實驗所測量到的膨潤現象對 pH 值變

化的結果之間的關係。在一些實驗數據中，可以得知隨著 pH 值的上升，膨潤程度同時也隨之上升，如圖 3-9[59-61]。本研究推測當質子化程度小於 40% 時，頭尾端距以及 R_G 分析中 GC 分子鏈所表現的較高的柔軟程度以及放入水中較為延展的行為，可以使水膠較容易進行膨潤的行為。而 RDF 呈現出來的較低質子化程度具有聚集現象以及小部分分散的情況，可以留住膨潤後吸收的水分子並維持水膠結構穩定。上述的行為造成了較高的膨潤程度。而當質子化程度大於 40% 時，靜電力佔據較主要的地位，頭尾端距以及 R_G 分析中 GC 分子鏈所表現的較僵硬的柔軟程度以及放入水中會稍微收縮的行為，不利於膨潤的進行。而分散的 GC 分子鏈不利於膨潤後留住水分子。上述這些行為，造成了較低的膨潤程度。

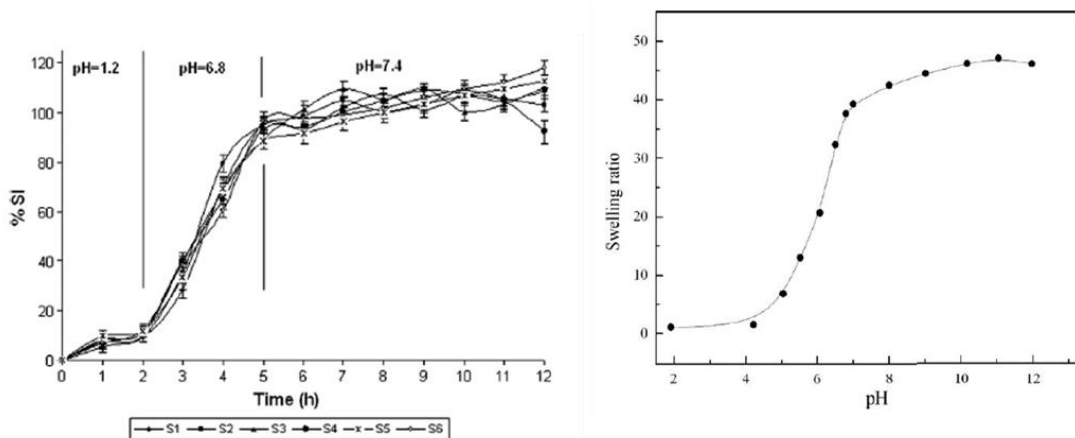


圖 3-9、以幾丁聚醣為主體的水膠在不同 pH 條件下的膨潤實驗[59-61]

3.3 pH 對乙二醇幾丁聚醣在水膠中的氫鍵形成的影響

除了前述探討分子結構特性與分布情況，本研究也在這裡探討 pH 對 GC 水膠中氫鍵形成的影響情況。在圖 3-3 中已經把 GC 可能形成氫鍵的官能基部位進行了分類。首先看到 GC 的分子間以及分子內形成的氫鍵在不同質子化程度下的數量，如圖 3-10。隨著質子化程度的上升，GC 的分子間及分子內氫鍵數也有所的下降。配合前面的分析結果可以得知主要是因為聚集現象隨著質子化程度上升而消失，因此 GC 分子間氫鍵也消失而造成總數的下降。

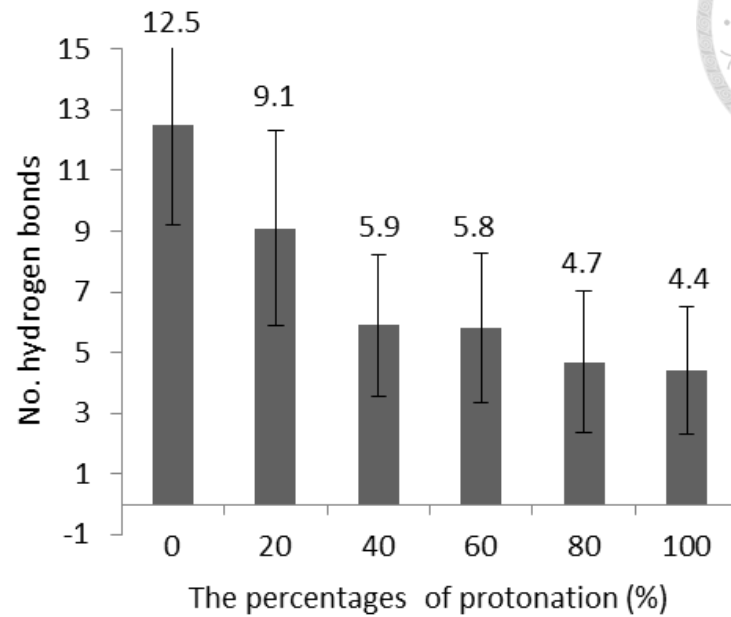


圖 3-10、乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨質子化程度變化

後面主要分析了 GC 與水之間形成的氫鍵，這裡是本研究對氫鍵主要分析的重點，因為本研究中的水膠模型中水占有 97 wt.%，而 GC 又是親水性物質，相較於 GC 自身分子間以及分子內氫鍵總數，GC 與水之間形成氫鍵總數還要來的更多。首先看到 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上胺基，也就是 GC 主鏈上的 N1 以及 N2 與水之間形成氫鍵數，如圖 3-11。可以直接看到，隨著質子化程度越高，N2 的比例也是會隨之上升，同時也造成了 N1 以 N2 與水間總氫鍵上升。這代表了 N2 相較於 N1 還要更容易與水形成氫鍵，這是由於 N2 帶正電的關係，使得胺基的氮原子以及水分子的氧之間的極性差更大，帶正電的胺基與水形成氫鍵的強度相較於沒帶正電的胺基與水形成氫鍵的強度還要來的強，因此形成的氫鍵更穩定而數量上升。因此可得知帶正電的胺基所形成的與水間的氫鍵來的更加穩定一些，也造成了 N2 相較於 N1 還要更容易與水形成氫鍵的結果。

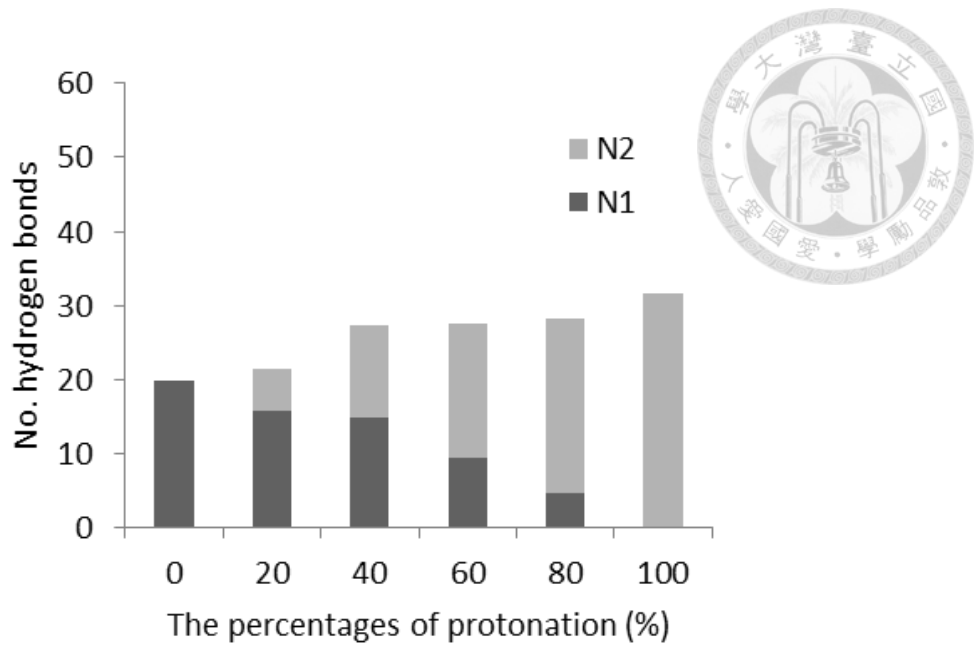


圖 3-11、N1 以及 N2 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化

而接著分析位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 的含氧官能基，也就是 GC 主鏈上的 O1-main 以及 O2-main 的部分，如圖 3-12。可以從圖 3-12 可以看到 O1-main 以及 O2-main 的與水間氫鍵數都會隨著質子化程度的上升而下降，O1-main 與 O2-side 與水間氫鍵總數一開始隨著質子化上升沒有明顯變化，但當質子化程度到了 40% 之後兩者與水間氫鍵總數明顯的隨著質子化程度上升而下降。這裡有這樣的變化趨勢主要是因為受到聚集現象的存在與否的影響。

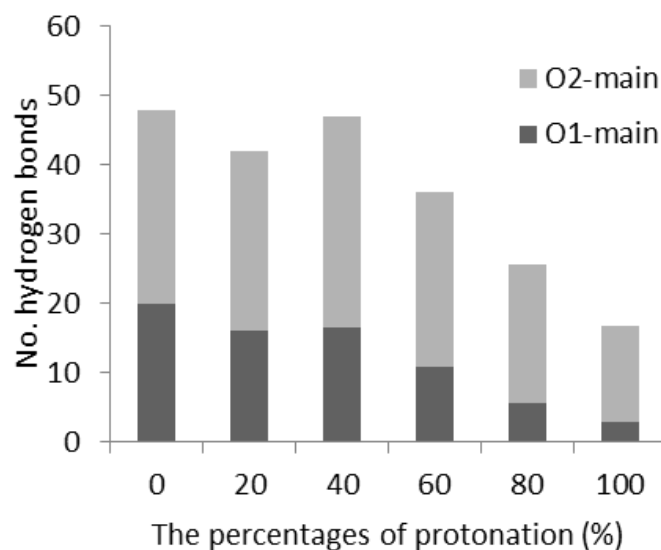



圖 3-12、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化



在低質子化程度 ($< 40\%$) 的時候，由於聚集現象的關係，GC 分子鏈本身就會與其他 GC 分子鏈形成分子間氫鍵而使與水間氫鍵數稍微下降，因此受到質子化程度的影響就降低了而比較不明顯。而在高質子化程度 ($> 40\%$) 的時候，由於聚集現象已經幾乎消失，所以受到質子化程度的影響較大。而為了瞭解到底質子化是如何影響 O1-main 以及 O2-main 的與水間氫鍵數，這裡將鄰近於帶正電的胺基，也就是 N2 周圍的含氧官能基選出來並分析他們的氫鍵發生率，如圖 3-13。可以發現到這些鄰近於 N2 的含氧官能基的與水間氫鍵發生率相較於其他沒有靠近 N2 的氫鍵發生率都低上非常多，這說明了質子化後的胺基在與水形成的氫鍵這件事與周遭的含氧官能基形成強烈的競爭關係。N2 會促使水分子與 O1-main 或 O2-main 之間形成氫鍵的方向被破壞並靠近 N2。而在那些沒有靠近 N2 的 O1-main 以及 O2-main 的與水間氫鍵發生率在質子化程度 20% 到 40% 時，有一個驟然上升的趨勢。根據前面已經有的分析結果，這個趨勢的出現為聚集現象的消失所造成。聚集現象的消失使原本被包覆在內的 O1-main 以及 O2-main 不會與其他 GC 分子鏈形成分子間氫鍵轉而與水形成氫鍵，因此使氫鍵發生率上升。而在那些靠近 N2 的 O1-main 以及 O2-main 沒有發現到這些現象的原因是因為即使周遭的水分子變多，依然都會受到 N2 的影響而無法形成氫鍵，因此與水間氫鍵發生率並不會有所變動。

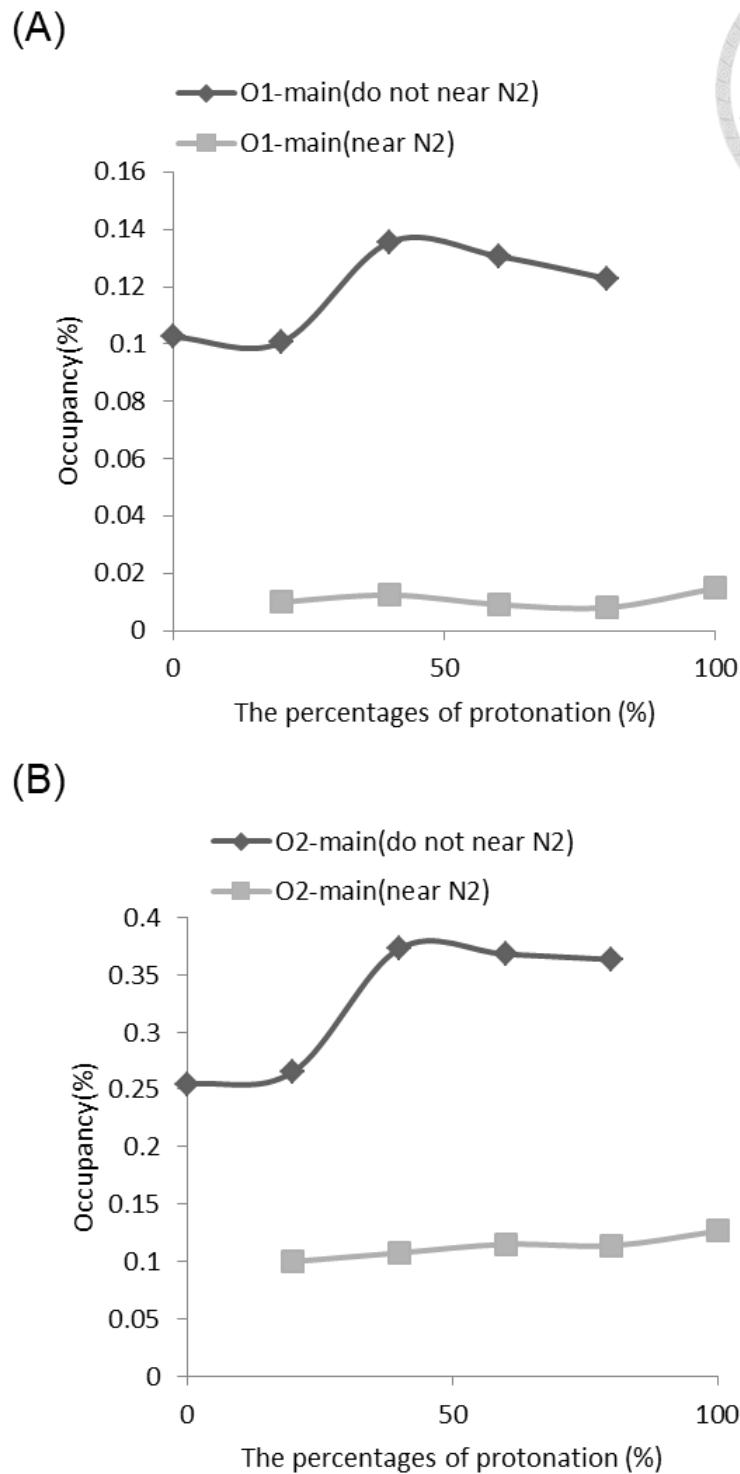


圖 3-13、(A)沒有靠近 N2 之 O1-main 以及鄰近 N2 之 O1-main 兩者與水間氫鍵發生率隨質子化程度變化(B) 沒有靠近 N2 之 O2-main 以及鄰近 N2 之 O2-main 兩者與水間氫鍵發生率隨質子化程度變化

另外本研究還發現 O1-main 以及 O2-main 兩者的與水間氫鍵相差不大，但當計算

兩者的個別的官能基總數，可以知道 O1-main 的總數為 195 個，而 O2-main 總數為 110 個，可知 O1-main 的總數幾乎是 O2-main 總數的兩倍。同時本研究另外將 O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵總數轉換成氫鍵發生率，如圖 3-14。這裡可以明顯的看到 O1-main 的氫鍵發生率只有 O2-main 的氫鍵發生率的一半。回顧 GC 的分子結構可以得知 O1-main 的結構位置相較於 O2-main 的結構位置有較高的立體障礙，而這個立體障礙導致了 O1-main 比較不容易去形成水間氫鍵。為了更能清楚了解立體障礙的影響，這裡分別計算了 O1-main 以及 O2-main 周圍 5Å 距離以內的水分子總數，並且將 O2-main 周遭的水分子總數除以 O1-main 周遭的水分子總數，如圖 3-15。可以看到雖然 O1-main 本身的總數是 O2-main 的兩倍，但 O2-main 周圍的水分子總數基本上都是大於 O1-main 周圍的水分子總數。這一個數據清楚說明了立體障礙使 O1-main 相較於 O2-main 更不容易與水接觸並且形成氫鍵。

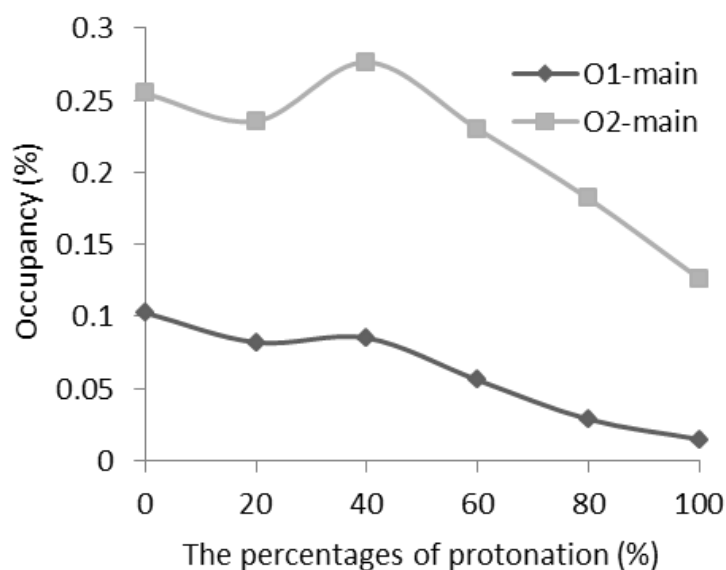


圖 3-14、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化

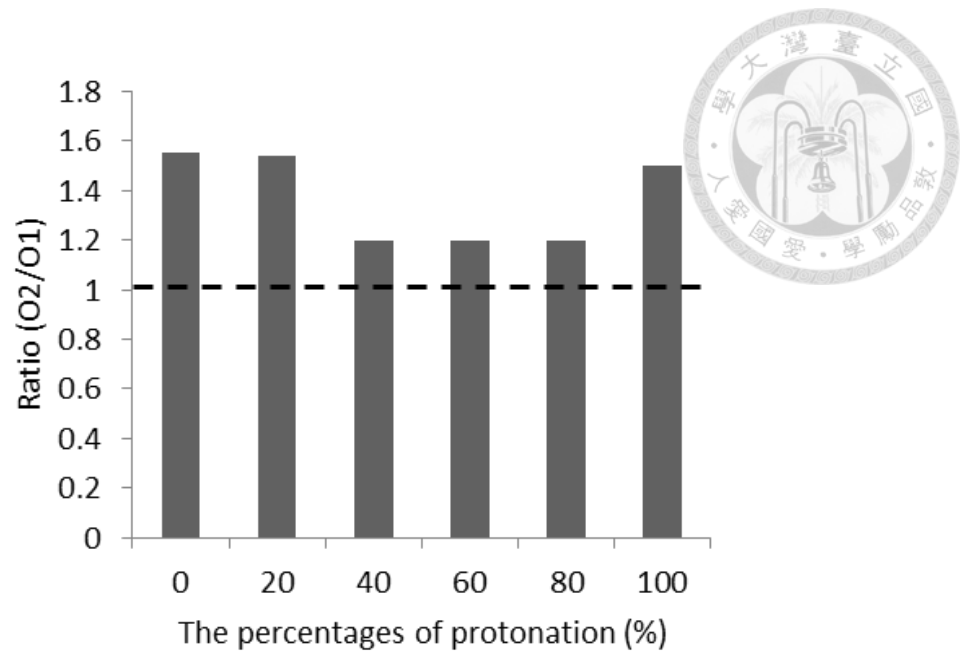


圖 3-15、O2-main 周遭水分子總數對 O1-main 周遭水分子總數的比率

接著本研究分析位於 glycol groups 上的含氧官能基，也就是 GC 側鏈上的 O1-side 以及 O2-side 的與水間氫鍵，如圖 3-16。可以發現似乎 O1-side 以及 O2-side 與水間氫鍵總數隨著質子化程度似乎沒有明顯趨勢，沒有如同 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的 O1-main 以及 O2-main 的與水間氫鍵數有著明顯的下降趨勢，而這主要是因為 GC 分子結構的關係。本研究測量了 O1-side 以及 O2-side 對於 N2 的距離，基本上 O1-side 的距離都不會低於 4Å，而 O2-side 則是不會低於 5Å，這個距離相較於 O1-main 以及 O2-main 對於 N2 的距離還要來的遠，如圖 3-17。這表現出了質子化對周遭水分子方向的影響範圍是有一個範圍的。

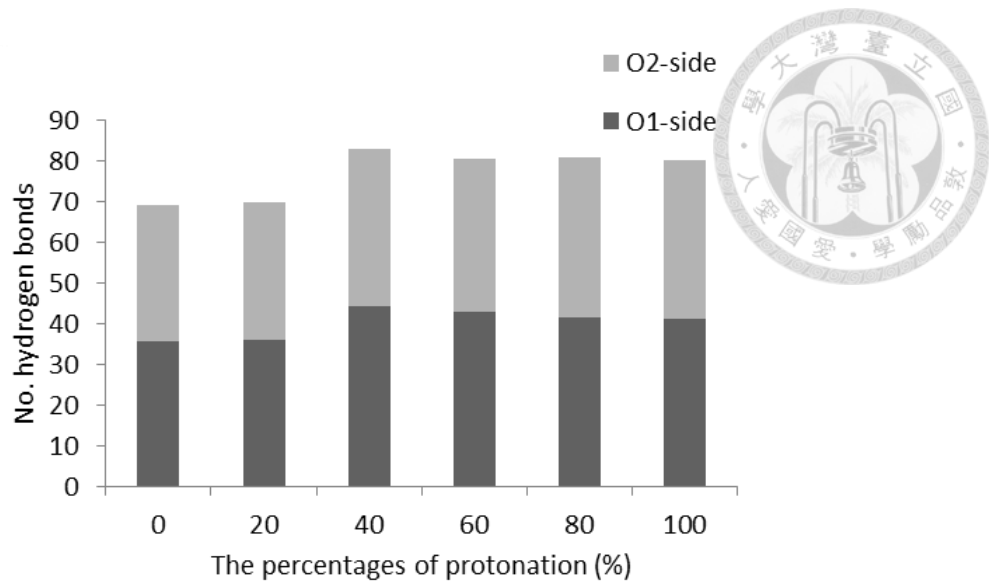


圖 3-16、O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化

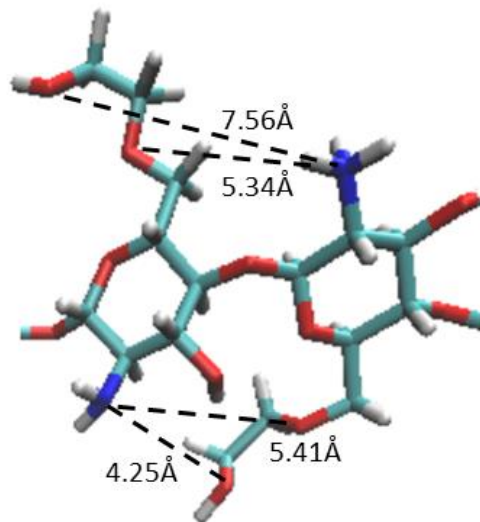


圖 3-17、O1-side 以及 O2-side 與 N2 之間的距離

但當仔細注意質子化程度為 20% 以及 40% 的部分時，可以發現到有一個明顯的落差。在這裡低質子化程度具有較低的與水間氫鍵總數的原因主要也是來自於聚集現象的存在。GC 分子鏈本身就會與其他 GC 分子鏈形成分子間氫鍵而使與水間氫鍵數稍微下降，而在前面 RDF 可以知道聚集現象在 40% 已經幾乎消失，因此造成在 40% 有一個明顯的上升趨勢。而為了要證實 GC 側鏈的乙二醇也會受到聚集現象的影響，這裡分析了所有沒有靠近其他 GC 分子鏈 5Å 以內的乙二醇分子團總數，如圖 3-18。可以看到在質子化程度 40% 以前其總數隨著質子化程度上升有明顯上升，這代表了聚集現象的消失；而在質子化程度 40% 後由於幾乎已經分散

而使變化斜率明顯降低，基本上乙二醇已經幾乎不會與其他 GC 有所接觸。

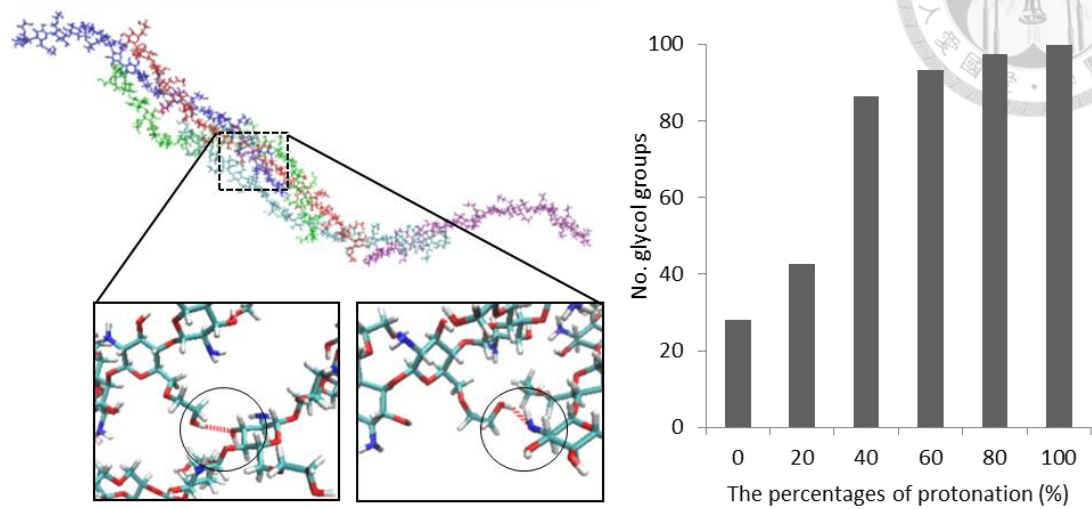


圖 3-18、聚集現象示意圖以及沒靠近其他乙二醇幾丁聚醣分子鏈的乙二醇隨著質子化程度變化

當分別分析完了 β -(1-4)-linked D-glucosamine 跟 glycol groups 上的官能基與質子化之間的關係後，本研究將前述所有的與水間氫鍵數作一個總和以及分析，如圖 3-19。在圖 3-19A 將質子化程度 40% 做為一個分界點。當質子化程度小於 40%，配合前面的頭尾端距、 R_G 以及 RDF 的分析，認為這一個區間主要受到凡得瓦力的主導。凡得瓦力的主導地位造成 GC 之間因為彼此作用力而造成的聚集現象，同時造成了 GC 與水間氫鍵數較低而且比較不受到質子化的影響。而當質子化程度大於 40%，則是靜電作用力佔主導的地位，此時的 GC 彼此之間的靜電斥力大於凡得瓦力的影響，因此造成聚集現象的消失。而在質子化程度為 40% 時因為質子化影響相對較小且聚集現象已經幾乎消失了，因此與水間氫鍵為一個最大值的存在。而隨著質子化程度上升，靜電作用力造成靠近質子化的胺基的含氧官能基不容易與水形成氫鍵，因此使與水間氫鍵總數逐漸降低。

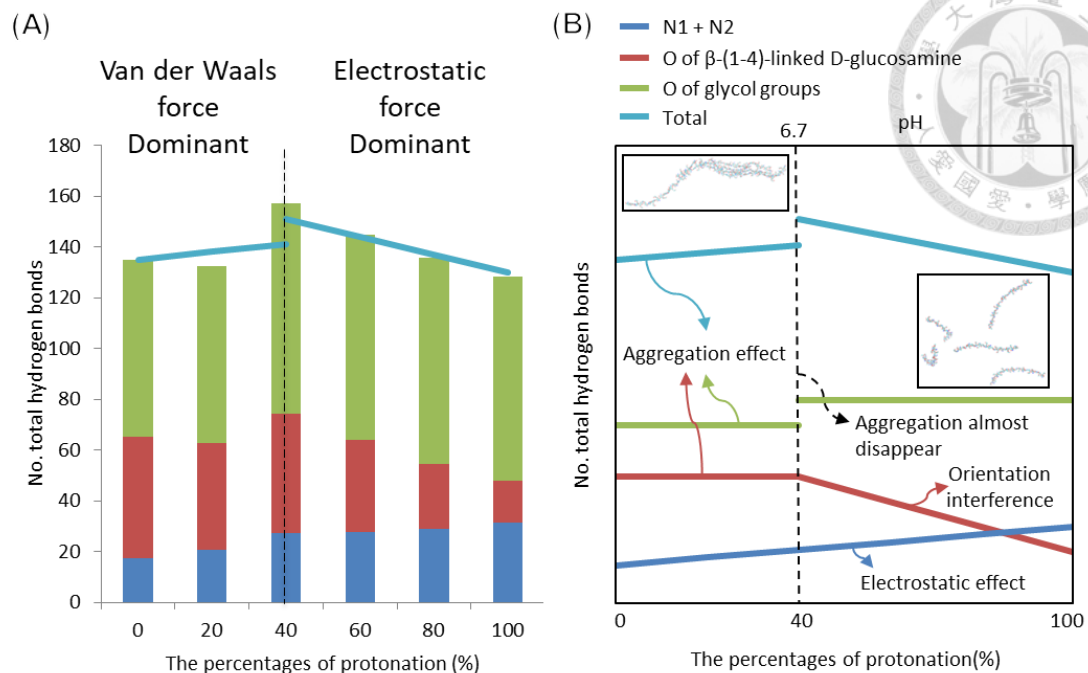


圖 3-19、乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵總數以及機制示意圖(A) 乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵總數隨質子化程度變化(B)乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵總數隨質子化程度變化示意圖及分類圖

而在圖 3-19B，本研究將 GC 上的會與水形成氫鍵的官能基按照前面的分類分別做成了變化的示意圖。不帶電的胺基以及帶正電的胺基，N1 以及 N2，隨著質子化程度的上升，更容易與水形成較穩定氫鍵的 N2 所佔比例上升，造成全部胺基與水形成氫鍵總數上升，本研究將這個現象稱作 electrostatic effect。而位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 的含氧官能基在質子化程度小於 40% (pH=6.7) 時，由於 aggregation effect 的關係不隨質子化程度變化。但當質子化程度大於 40% 後，聚集現象消失的同時，其與水間氫鍵數變化趨勢受到帶正電的胺基極大的影響而使其與水間氫鍵數逐漸下降，下降的這個現象本研究稱作 orientation interference。而在 glycol groups 上的含氧官能基則因為結構關係不會受到太多質子化造成的影響，整體趨勢沒有隨著質子化程度而變化。但是在低質子化程度時，glycol groups 上的含氧官能基依舊會受到聚集現象的影響在質子化程度為 40% 時有一個落差的存在。而為了更加清楚了解 electrostatic effect 以及 orientation interference 是如何影響 GC 與水間氫鍵的形成，本研究將其作成了簡單機構示意圖以幫助讀者更容易瞭解這兩個機制的的作用，如圖 3-20。Orientation interference 主要是因為帶正電的胺基

會與水形成更強的氫鍵，同時與周遭的含氧官能基形成競爭關係並且影響水分子的方向性而使水分子無法與含氧官能基形成氫鍵。而 electrostatic effect 主要是因為胺基在帶正電後，與水之間更容易形成氫鍵並且具有更強的氫鍵強度。

Orientation interference and electrostatic effect

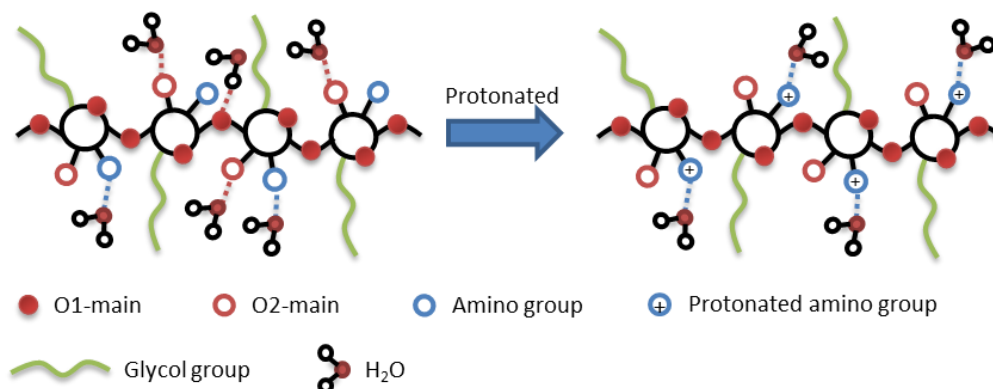


圖 3-20、Orientation interference 以及 electrostatic effect 對乙二醇幾丁聚醣與水間氫鍵形成影響示意圖

3.4 討論

由分子動力模擬，本研究證實在水中 GC 分子鏈確實具有比幾丁聚醣還要更大的 R_G 值代表了在水中更為延展。GC 上的乙二醇基團也具有高度的自由度，可以利用氫鍵去抓住更多的水分子。乙二醇基團與水間形成的氫鍵數使 GC 的氫鍵數幾乎兩倍於幾丁聚醣。這些結果都會表明了 GC 分子鏈具有比幾丁聚醣還要高的親水性。而比較了不同質子化程度下的 DDA 程度為 100% 的 GC 水膠模型以及真空中的 GC 分子鏈模型的頭尾端距以及 R_G 值，可以發現改變 pH 會使兩組模型之間的表现不同，而水溶液在其中也扮演著重要的角色。當質子化程度低於 40% 時 (pH 為中性並接近鹼性時)，GC 分子鏈在真空中的頭尾端距以及 R_G 值較小表示了 GC 自身的凡得瓦力的佔主導地位；加入水溶液中後趨向延展代表了 GC 的親水性。而當質子化程度高於 40% 時 (pH 接近酸性時)，GC 分子鏈在真空中的頭尾端距以及 R_G 值較大表示了 GC 自身的靜電斥力的佔主導地位；而加入水中的略微收縮代表了水溶液的存在屏蔽了帶正電的胺基的靜電作用力。而根據 RDF 的分析，得知隨著質子化程度的增加，GC 分子鏈在水膠會更趨向於分散開。綜合以上的分析結果

與之前其他人在幾丁聚醣水膠的研究實驗中發現膨潤行為與 pH 之間的關係結果作結合，結果表明當 pH 為中性並逐漸趨向於鹼性時，GC 分子鏈具有較為柔軟並且有聚集以及部分聚集現象導致了較高的膨潤性質。而在酸性環境下 GC 的略為收縮行為以及幾乎完全分散的分布導致了較低的膨潤性質。

而在 GC 分子鏈與水之間氫鍵的分析上，質子化後的胺基具有比未質子化的胺基更穩定的與水間氫鍵而造成了較高的氫鍵發生率。而質子化後的胺基會破壞周遭 GC 分子鏈上的含氧官能基團與水之間的氫鍵形成而造成了其較低的氫鍵發生率。當質子化程度小於 40% 時，位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的含氧官能基與水間氫鍵數由於凡得瓦力佔主導地位並造成聚集現象的關係，幾乎不會隨著質子化程度有所變化。當質子化程度大於 40% 時，其與水間氫鍵由於靜電作用力開始佔主導地位並使聚集現象消失，會開始隨著質子化程度上升而明顯的下降。而在 glycol groups 上的含氧官能基與水間氫鍵由於結構位置的關係並不會受到質子化後的胺基而影響，因此不會隨著質子化程度上升而有所變化。但是 glycol groups 依舊會受到凡得瓦力所影響，在質子化程度 20% 與 40% 之間其有一個與水間氫鍵數的落差是由於聚集現象的消失所造成。而在 GC 與水間總氫鍵數上，在質子化程度小於 40% 時不隨著質子化程度上升有所變化，與當質子化程度大於 40% 時隨著質子化程度上升其總數隨之下降；這兩個結果表現出了此 GC 水膠模型在質子化程度大於 40%（朝酸性環境接近）時具有 pH 敏感度。

第4章、去乙醯度以及交聯劑對己二醇幾丁聚醣水

膠之影響

在前一個章節主要分析 GC 水膠模型在不同 pH 情況下，pH 對 GC 在水膠中的分子結構特性與分布情況之影響以及 pH 對 GC 與水之間氫鍵特性影響。接著，本研究在基於前一個章節所建立基礎上，會先針對 DDA 的程度來進行探討。接著，本研究在前一章的模型條件下在模型中加入交聯劑，以期找出自癒合與 GC 和交聯劑 DF-PEG 之間的作用關係。

4.1 pH 對不同去乙醯度之乙二醇幾丁聚醣水膠中的分子結構特性與分布情況之影響

本研究這裡定義的質子化程度為質子化後的單體數佔總單體數的比例。因為不同的 DDA 程度可以質子化的胺基總數是不相同的，因此這裡定義的相同質子化程度在不同的 DDA 程度下會形成不同的 pH 值。本研究將在不同的 DDA 程度且不同質子化程度的對應 pH 呈現在表 4-1。

Percentages of protonation (%)	pH		
	100%DDA	80%DDA	60%DDA
0	> 8.5	> 8.5	> 8.5
20	7.1	7	6.8
40	6.7	6.5	6.2
60	6.32	6.02	< 4.5
80	5.89	< 4.5	
100	< 4.5		

表 4-1、不同去乙醯度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型在不同質子化程度對應之 pH 值

首先要比較在不同的 DDA 程度下的 GC 水膠在不同的 pH 值條件下，GC 分子鏈本身的結構特性是否有所改變，如圖 4-1。先從圖 4-1 看起，可以看到在不同 DDA



程度下，GC 水膠的頭尾端距在相同質子化程度下變化似乎並沒有一個一定的變化趨勢。只能夠看到當質化程度較小時，DDA 程度的下降，使得頭尾端距逐漸下降，但隨著質子化程度上升，這個趨勢也逐漸消失不見。

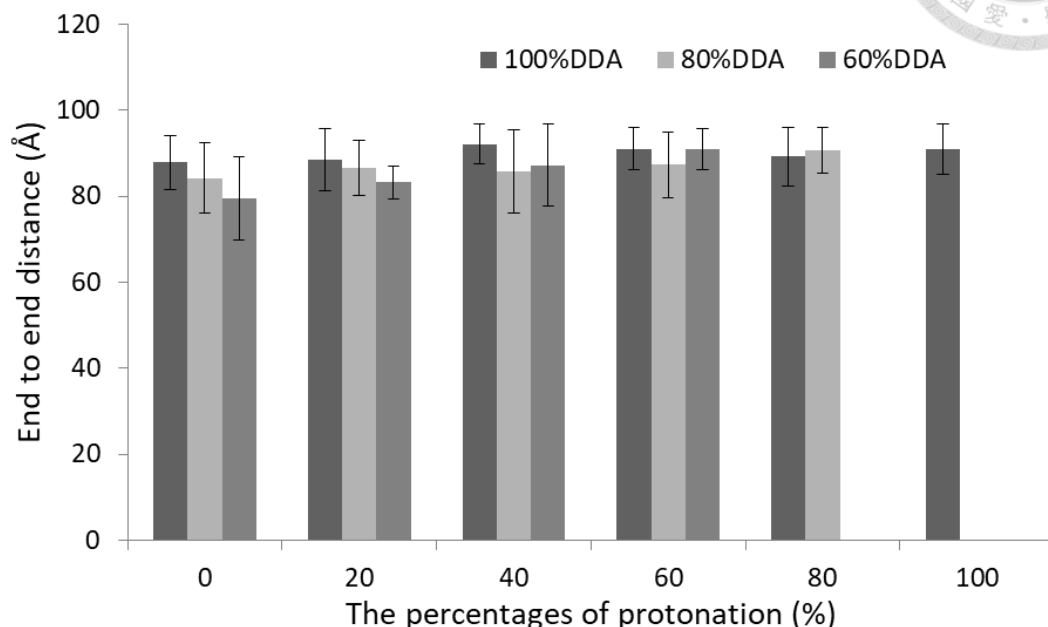


圖 4-1、不同的去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的頭尾端距隨不同質子化程度之變化

由於無法從中得知 DDA 程度的影響，因此本研究將橫軸的質子化程度轉變為 pH 值，進而比較在不同 pH 下的差距，如圖 4-2。將橫軸座標轉變為 pH 值後，不同 DDA 程度下的趨勢差異變得更加清楚了一些。可以得知在較酸性的環境下，不同 DDA 的程度下 GC 水膠中的 GC 分子鏈頭尾端距並沒有差異。但是隨著 pH 逐漸的來到鹼性環境下，可以發現到 DDA 程度較低者，下降的趨勢似乎較為陡峭，或許與其在鹼性環境下的聚集，以及其隨著 DDA 程度會改變自身在水中溶解度有關。DDA 程度較低者在鹼性環境下較不容易溶於水，因此親水性較差而較不延展。

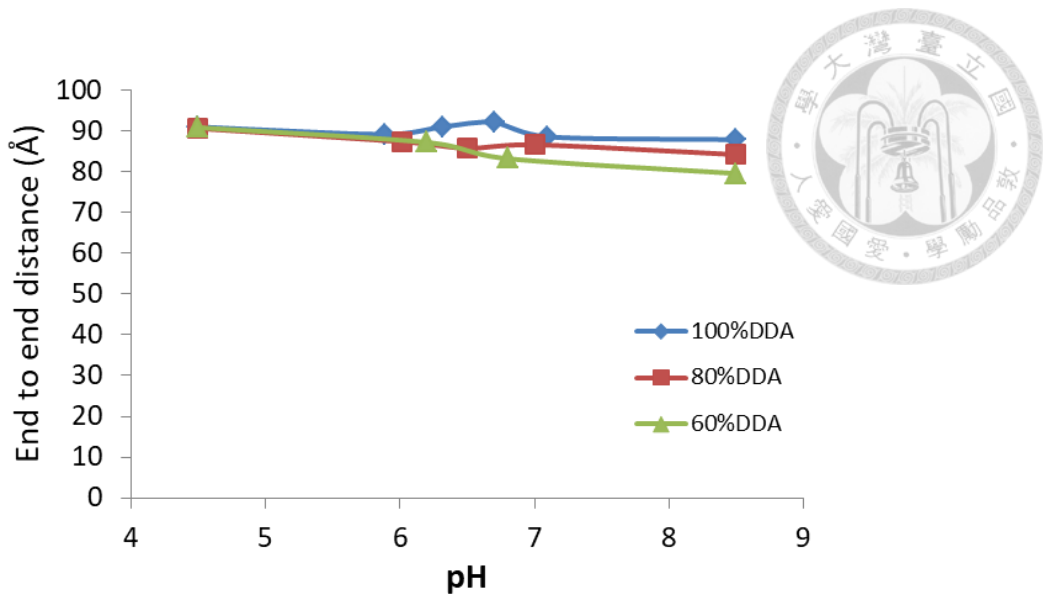


圖 4-2、不同的去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的頭尾端距隨不同 pH 值之變化

當比較完了頭尾端距的部分，本研究在更進一步探討 R_G 部分的差異，如圖 4-3。當橫軸用質子化程度做分類時，同一質子化程度下，不同的 DDA 程度也沒有明顯的變化趨勢。

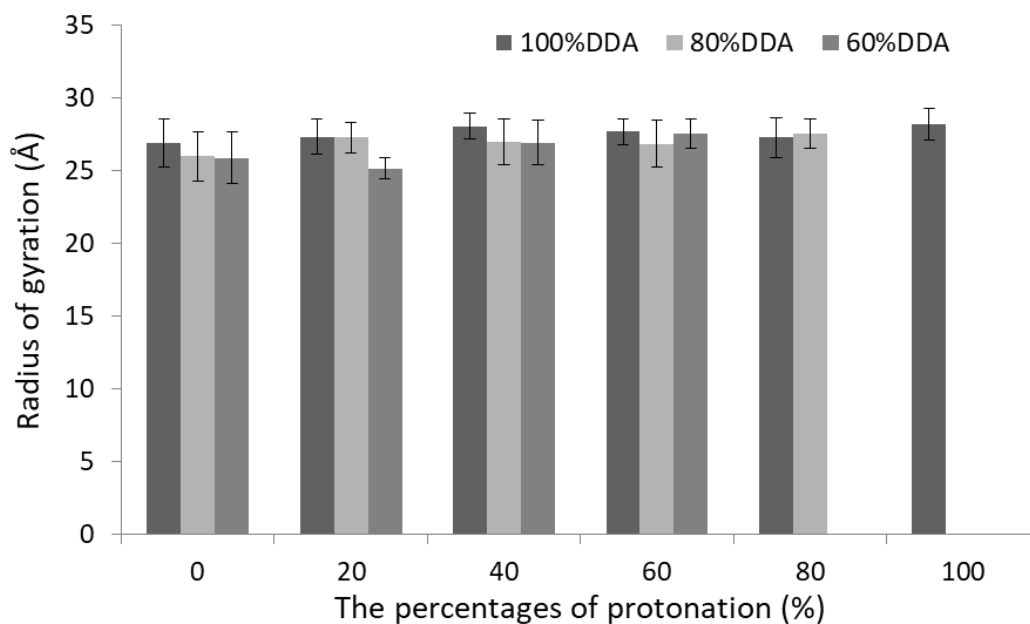


圖 4-3、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的 R_G 隨不同質子化程度之變化

而由於無法從中得知 DDA 程度的影響，因此同樣將橫軸的質子化程度轉變為 pH 值，進而比較在不同 pH 下的差距，如圖 4-4。將橫軸座標轉變為 pH 值後，不同 DDA 程度下的趨勢差異似乎並沒有變得更加的明顯。因此 pH 值對不同的

DDA 程度的 GC 水膠模型的 R_G 在數據上並沒有明顯的影響。

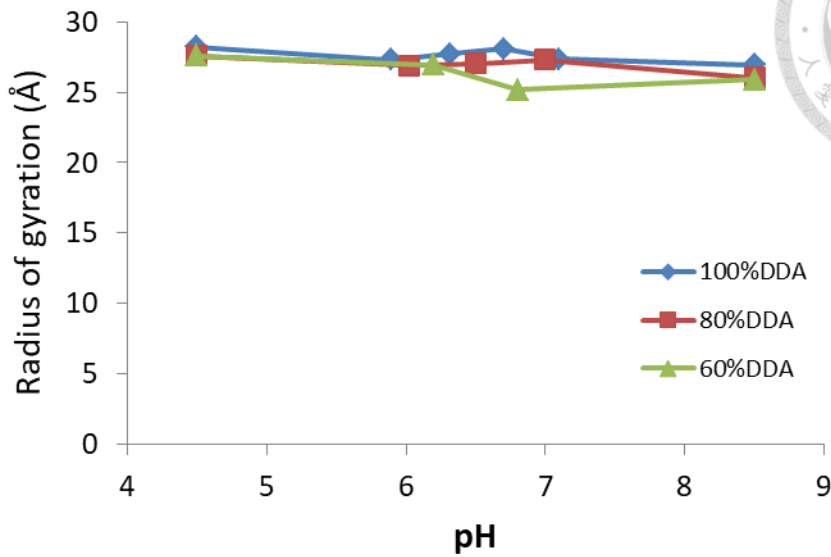


圖 4-4、不同的去乙酰度下，乙二醇幾丁聚醣水膠的 R_G 隨不同 pH 值之變化

在探討完了 GC 本身結構特性的變化之外，本研究也希望了解在不同的 DDA 程度下，GC 在水膠的分布情況隨著 pH 值變化情況會不會有所不同。首先，這裡直接比較了在不同 DDA 程度下，個別在不同的 VMD 影像截圖中是否有所不同，如前一章的圖 3-7、本章的圖 4-5 以及圖 4-6 所示。在圖 4-5 中直接比較了 DDA 程度為 80% 時，0%、20%、40%、60% 以及 80% 的 VMD 影像截圖。圖中本研究將模型中五條不同的 GC 分別用五種顏色進行區分以方便進行比較，分別為藍色、紅色、綠色、紫色以及灰色，與圖 3-7 手法相同。在質子化程度為 0% 的截圖可以明顯看到五條 GC 分子鏈會聚集在一起變成一條纖維狀。而到了質子化程度 20% 以及 40% 時，條與條之間雖然還有接觸，但不如 0% 時那麼地聚集在一起，40% 時更加明顯的分散開。而到了 60%、80% 時，可以看到 GC 分子鏈彼此之間幾乎已經完全分散開了。

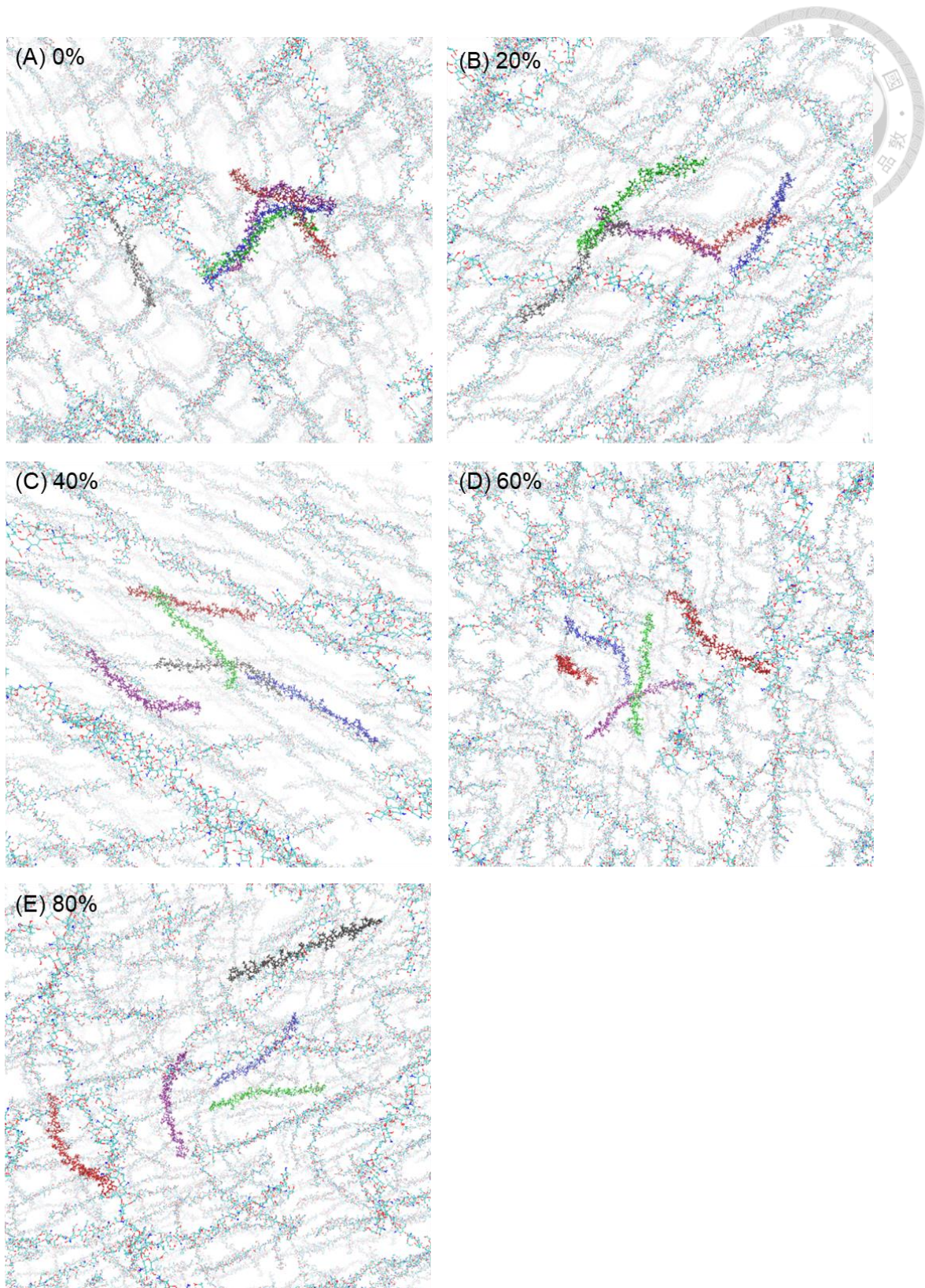


圖 4-5、在去乙酰度為 80% 時，不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖

而在圖 4-6 中，顏色所代表的意義同圖 3-7 以及圖 4-5。在質子化程度為 0% 的截圖可以明顯看到五條 GC 分子鏈一樣會聚集在一起，而到了質子化程度為 40% 後只剩下一部份連接在一起。到了質子化程度為 60% 後，彼此之間同樣幾乎已經完全分散開了。

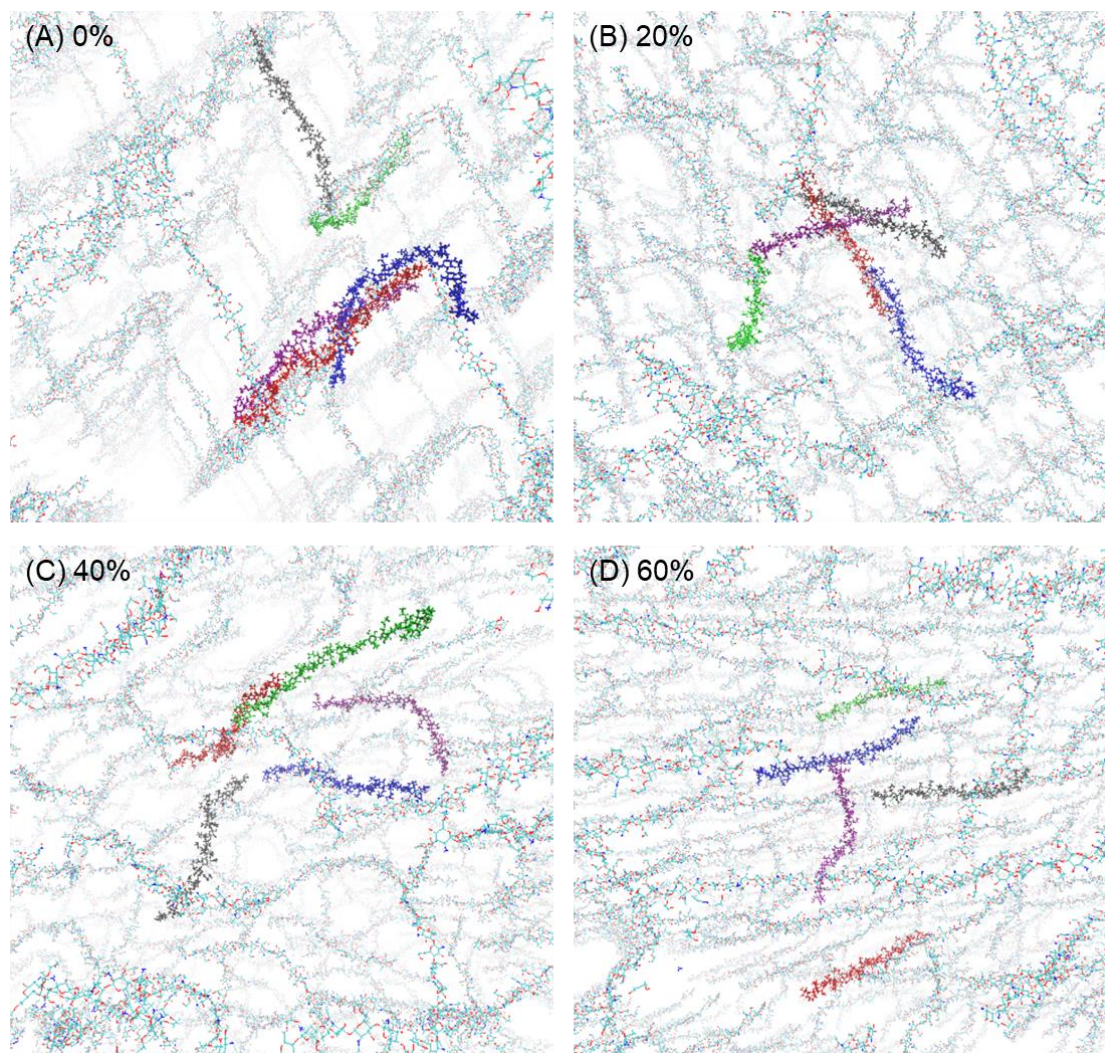



圖 4-6、在去乙酰度為 60% 時，不同質子化程度下的乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖

而目前只有用眼睛去觀察分散的變化而無法比較在不同 DDA 程度下，GC 分子鏈在水膠中分散情況有何差異。為了更加容易比較之間的差異，本研究一樣分析了 GC 水膠的 RDF，來比較再不同 DDA 程度下的變化差異，如圖 4-6。由 A 到 C 依序為在 DDA 程度 100%、80% 以及 60% 時，不同質子化程度時的 RDF 比較。從三張圖都可以看出來，在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 時有一個代表聚集的峰值存在，尤其在質



子化程度較低時比較明顯。而隨著質子化程度的上升，這個峰值會逐漸地減少並且幾乎消失，代表聚集現象的逐漸消失。而在前一章 DDA 程度為 100% 且質子化程度也為 100% 時，可以注意到在距離 $> 50 \text{ \AA}$ 的時候有一個明顯的也是唯一的峰值存在，本研究推測跟分散的程度有所關聯並且測量線下面積來分析。這裡找了不同 DDA 程度時，質子化程度為最小，在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 時的最大峰值；以及質子化程度為最大，在距離 $> 50 \text{ \AA}$ 時的最大峰值；並且，將這些數值標示在圖 4-6A、B、C 中，位於圖中虛線框框上方。先看到距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的各圖的峰值，發現到峰值位置變化不大。而在距離 $> 50 \text{ \AA}$ 的各圖的峰值，則是很明顯地看到隨著 DDA 程度下降，最高峰距離逐漸變遠。為了更加了解這些現象，本研究分別分析這些峰值得線下面積，範圍為以為這些峰值的距離為中心，取前後 3.2 \AA 的範圍，同前一章取法；而這些分析結果呈現在圖 4-7。

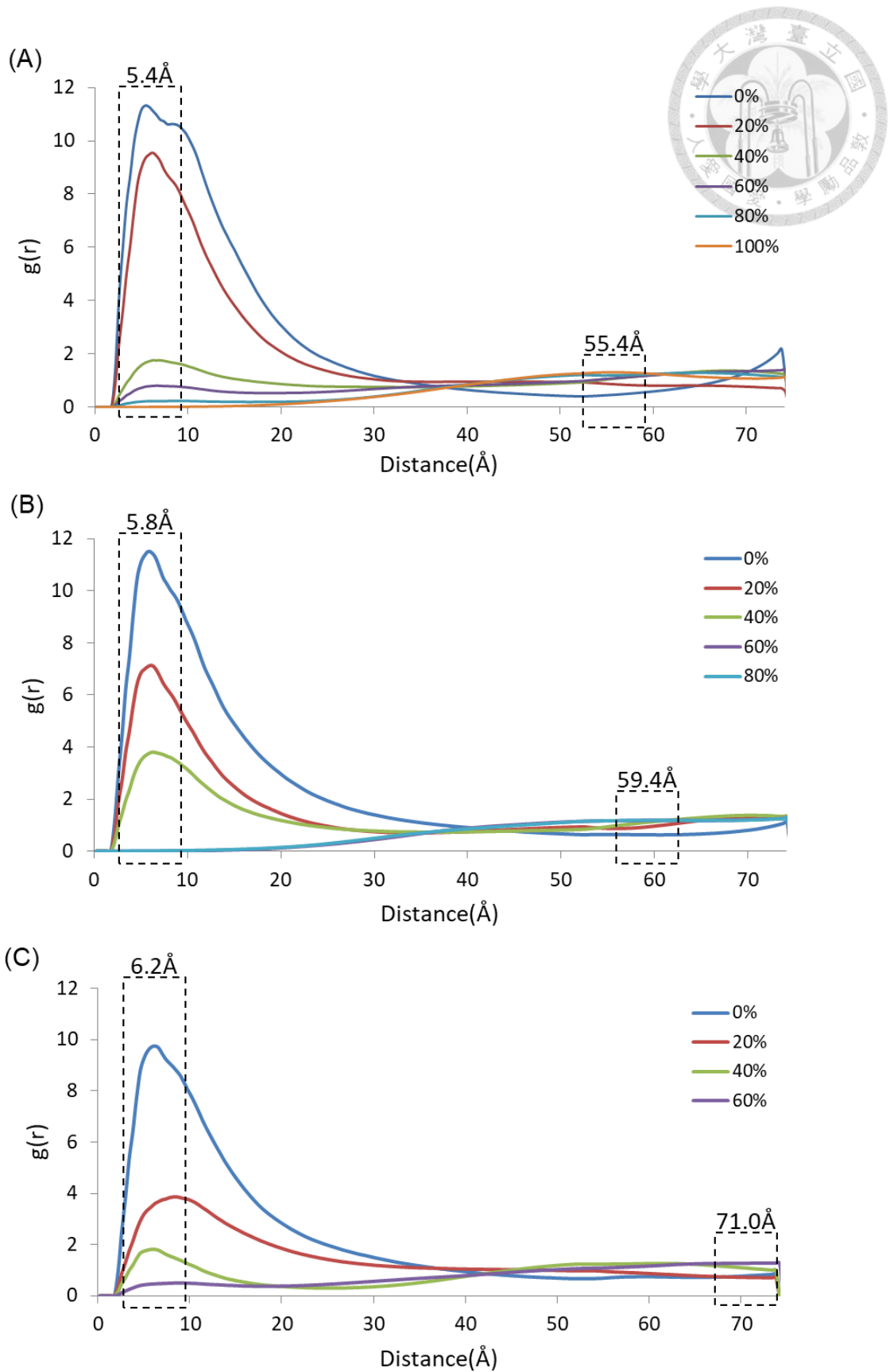


圖 4-7、乙二醇幾丁聚醃水膠在不同質子化程度之 RDF (A) 去乙酰度 100% (B) 去乙酰度 80% (C) 去乙酰度 60%

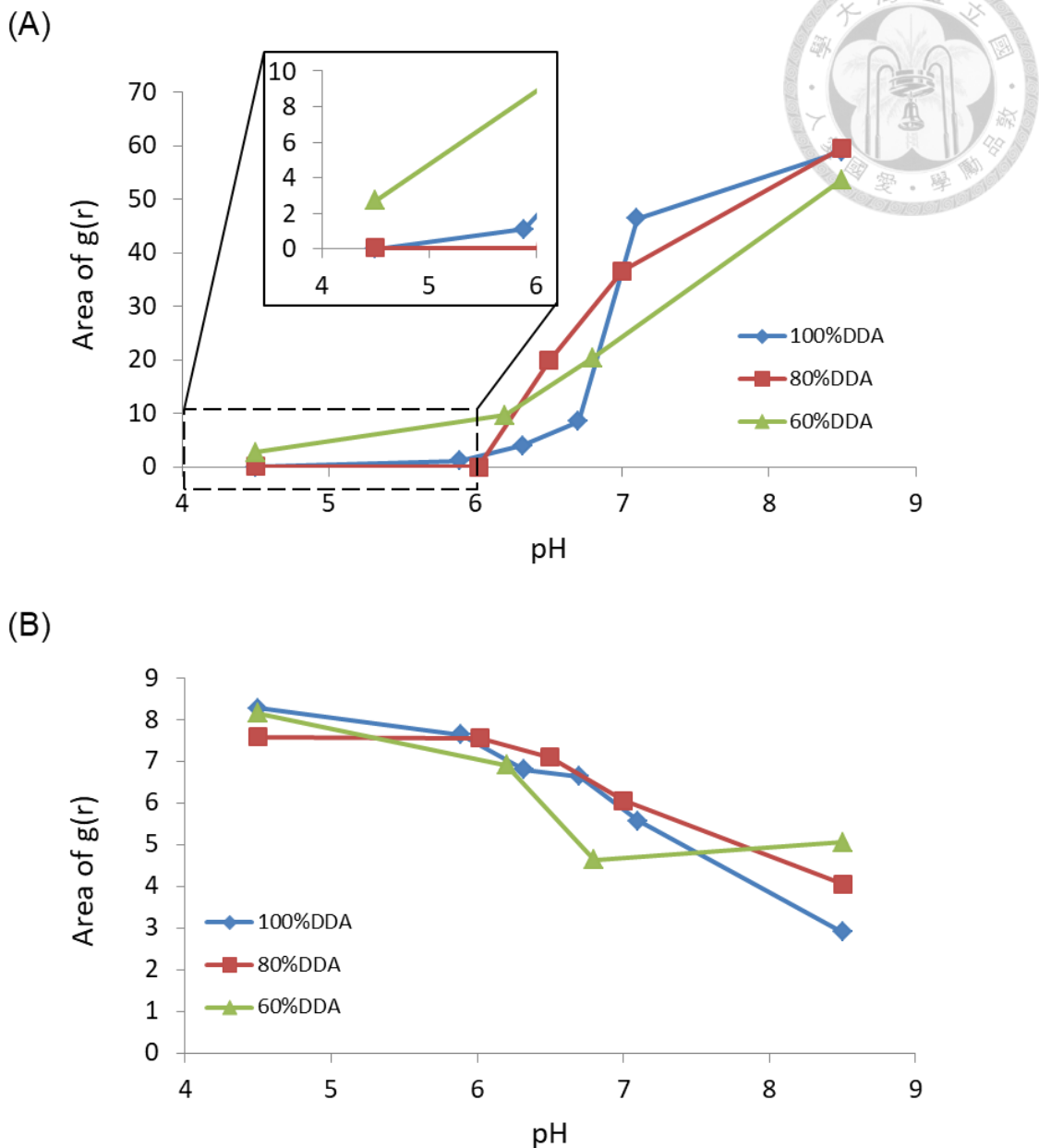


圖 4-8、不同去乙醯度下，峰值線下面積隨著 pH 變化(A)距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值線下面積(A)距離 $> 50 \text{ \AA}$ 的峰值線下面積

先看到圖 4-7A 的部分，圖中呈現距離 $< 10 \text{ \AA}$ 時的最大峰值下面積在不同 DDA 程度時隨著 pH 變化。可以看到在 pH 為酸性並且為 4.5 時，不同 DDA 程度時線下面積幾乎沒有差別。而在當 pH 為鹼性並且為 8.5 時，DDA 程度為 60% 時其值稍微的稍為略低一點。而會有這個略低現象可能是因為 DDA 程度較低時，具有的乙醯基數量較多而造成聚集堆疊的較為鬆散一點，但都是有明顯的聚集現象存在。再

來看到圖 4-7B 的部分，圖中呈現距離 $> 50 \text{ \AA}$ 時的最大峰值下面積在不同 DDA 程度時隨著 pH 變化。可以看到在 pH 為酸性並且為 4.5 時，不同 DDA 程度時線下面積差別一樣不是太大。而當 pH 為鹼性並且為 8.5 時，隨著 DDA 程度下降時線下面積的值逐漸上升。而造成這個現象的原因可能也跟低 DDA 程度時排列較為鬆散的原因有關。而再看到圖 4-7A、B 兩張圖的線條的變化趨勢，在圖 4-7A 明顯看到聚集現象的變化趨勢在靠近中性(pH 值為 6~7)的區段，DDA 程度越高，趨勢上升的越加陡峭，本研究推測這代表了 DDA 程度越低，對 pH 越不敏感。因為在鹼性環境時 DDA 程度低雖然因為結構關係聚集堆疊的緊湊度較低而線下面積較低，但在較為酸性環境下由於 DDA 程度較低的關係而使可以帶正電的胺基總數較低，因此較為容易還有些微的聚集現象存在。而在圖 4-7B 趨勢則是沒有太大變化，只有在圖 4-6 距離 $> 50 \text{ \AA}$ 時峰值存在的最大值有所差距。同時考慮到在酸性環境本來就因為靜電斥力分散而造成距離 $< 10 \text{ \AA}$ 時峰值面積較低，因此這裡將圖 4-7A 的 pH 為酸性並且為 4.5 時的數值尺度放大並呈現在圖 4-7A 上方，可以看到當 DDA 程度為 100% 以及 80% 時兩者皆幾乎為零，DDA 程度為 60% 時則是有數值的存在，證實了在 DDA 程度低時在較為酸性環境還是有些微的聚集。

4.2 pH 對不同去乙醯度的乙二醇幾丁聚醣在水膠中的氫鍵形成的影響

除了前述探討分子結構特性與分布情況，本研究在這裡同樣也探討不同 DDA 程度對 GC 水膠中在不同 pH 值條件下氫鍵形成的影響情況。而除了在前面圖 3-3 所已經進行 GC 上與水形成氫鍵官能基分類示意圖，由於考慮不同 DDA 程度下而在這裡多了一些氫鍵的分類種類，如圖 4-9。在這裡位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上，因為部分單體沒有經過去乙醯化而在胺基上接有乙醯基，進而形成新的分類。接有乙醯基的胺基這裡稱為 N3，而位於乙醯基上的含氧官能基團，羰基，則稱為 O3。

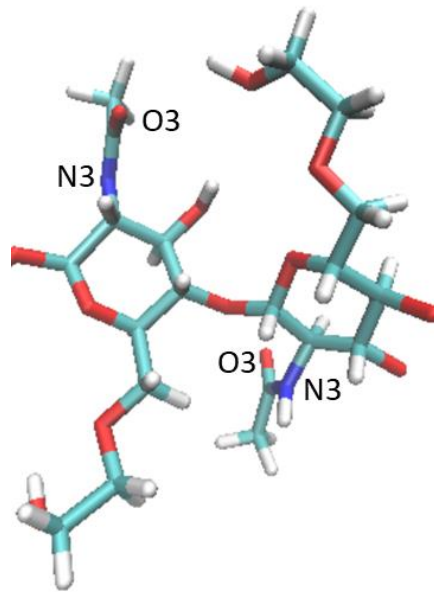


圖 4-9、乙二醇幾丁聚醣上與水形成氫鍵官能基分類示意圖

首先看到不同 DDA 程度下 GC 的分子間以及分子內形成的氫鍵在不同質子化程度下的數量，如圖 4-10。隨著質子化程度的上升，任何 DDA 程度下的 GC 的分子間及分子內氫鍵也有所的下降。這裡可以配合前面的分析得知主要是因為聚集現象隨著質子化程度上升而消失，因此 GC 分子間氫鍵也消失而造成總數的下降，同前一章發現。為了更加瞭解 DDA 程度不同的影響，本研究同樣把橫軸轉變為 pH，如圖 4-11。可以看到如同前一張圖所看到的現象，當 pH 從酸性環境上升到鹼性環境，GC 的分子間及分子內氫鍵因為聚集現象的產生而有所的上升。而本研究也發現到 GC 的分子間及分子內氫鍵的變化趨勢有左移的現象。這代表當 DDA 程度越低的時候，要再越酸性的環境下分子間氫鍵才會有所變化而下降。本研究推測這一個現象與其他實驗上得知當 DDA 程度較低而因此結構越接近幾丁質時溶解度會降低有所關聯[62]。在其他人的研究結果得知幾丁質與幾丁聚醣的固體結晶性與自身的分子間以及分子內氫鍵有著重要的關聯[63, 64]。當分子間氫鍵越多，代表著其越有可能排列較為接近固體時的結晶排列而不溶於水。因此當 DDA 程度越低的時候，需要在更為酸性的環境下才能溶於水溶液中，與實驗上所看到的現象相符合。

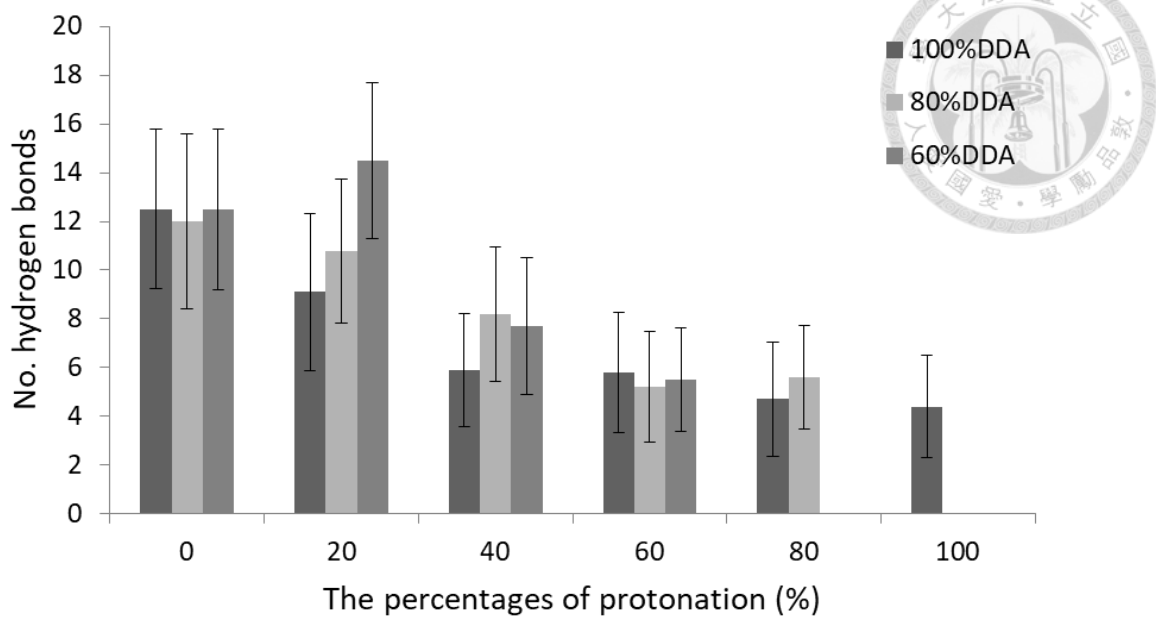


圖 4-10、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨質子化程度變化

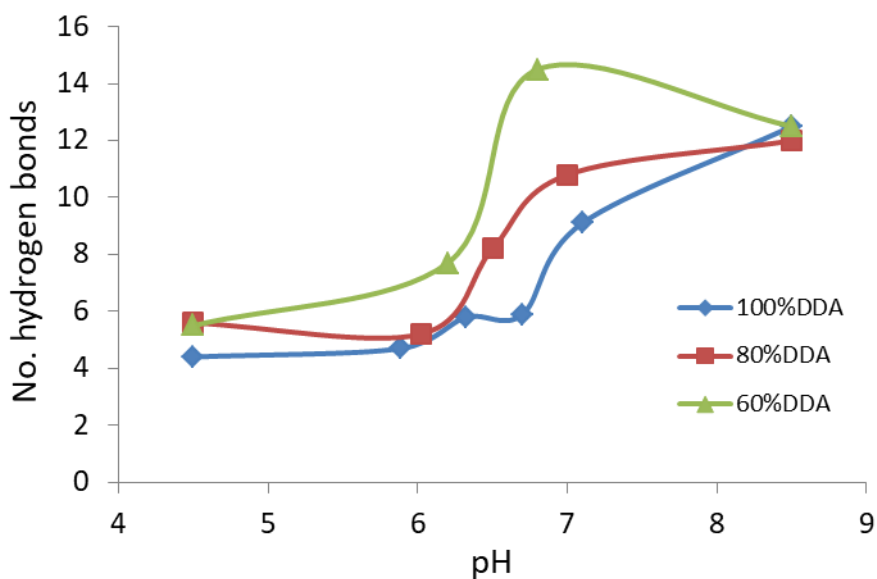



圖 4-11、不同去乙醯度下，乙二醇幾丁聚醣分子間以及分子內氫鍵數隨 pH 變化

後面同樣也分析了 GC 與水之間形成的氫鍵，因為本研究這裡的水膠模型還是有 97 wt.% 的水。同前一章的順序同樣首先看到 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上胺基，也就是 GC 主鏈上的 N1、N2 以及 N3 與水之間形成氫鍵數，探討 DDA 程度對其影響，如圖 4-12。圖 4-12A 為不同 DDA 程度時，N1、N2 以及 N3 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化。可以先看到在固定 DDA 程度下，隨著質子化程度越



高，N2 的比例也是會隨之上升，同時也造成了 N1、N2 以及 N3 與水間總氫鍵數上升。而原因就如同前一章所提到的，帶正電的 N2 與水形成的氫鍵更加穩定而使總數上升。接著這裡固定質子化程度，可以發現到隨著 DDA 程度下降，N3 的總數逐漸上升，進而使的 N1、N2 以及 N3 與水間總氫鍵數下降。這是由於 N3 相較於 N1 以及 N2，因為結構問題以及部份帶電原因而使其與水極性差較小，因此不容易與水形成穩定氫鍵。而為了更了解 N1、N2 以及 N3 之間的差異所帶來的影響，本研究將 N1、N2 以及 N3 各自的與水間氫鍵總數除以個別的官能基總數，轉變為氫鍵發生率來分析數據，如圖 4-12B。可以注意到在圖的右方數據主要分成三個群組，N1、N2 以及 N3。在各個群組中再分成 DDA 程度為 100%、80% 以及 60%，而由於 DDA 程度為 100% 不具有 N3，因此 N3 群組裡不包含 DDA 程度 100%。而在圖表中 N1、N2 以及 N3 也剛好分布在三個範圍，由上到下依序為 N2、N1 以及 N3 的氫鍵發生率。這裡可以更清楚的看到 N2 的與水間氫鍵發生率是最高的，其次是 N1 的與水間氫鍵發生率，最後是 N3 的與水間氫鍵發生率。而各個 DDA 程度下對同一官能基的與水間氫鍵發生率沒有影響，各個質子化程度下對同一官能基的與水間氫鍵發生率也沒有影響。因此影響這三個官能基的因素主要為官能基本身帶電程度以及結構特性。

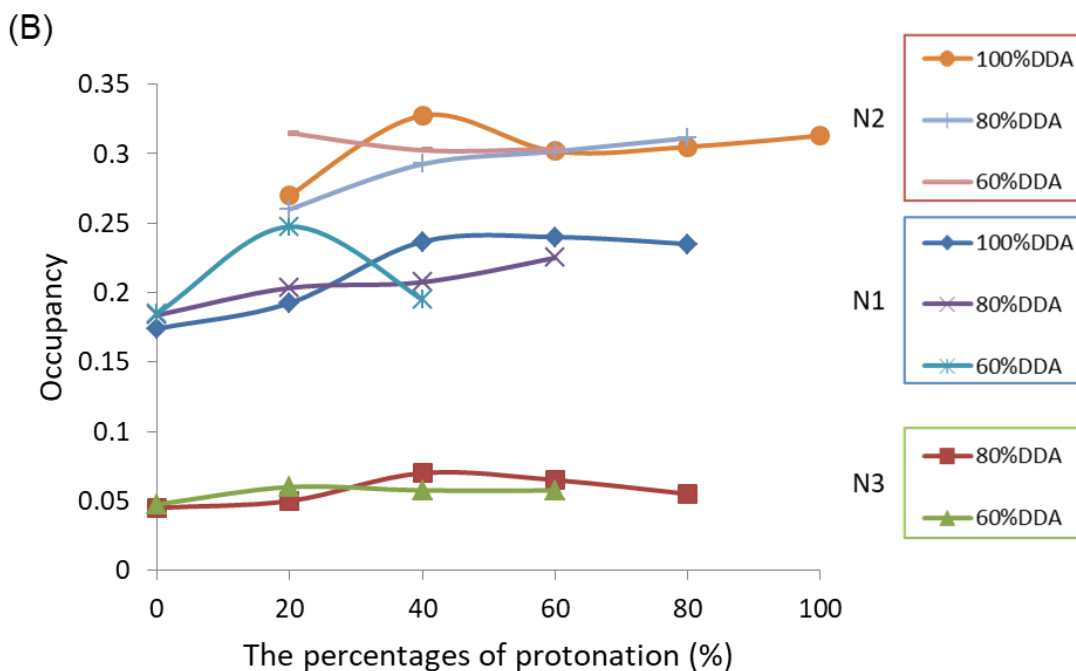
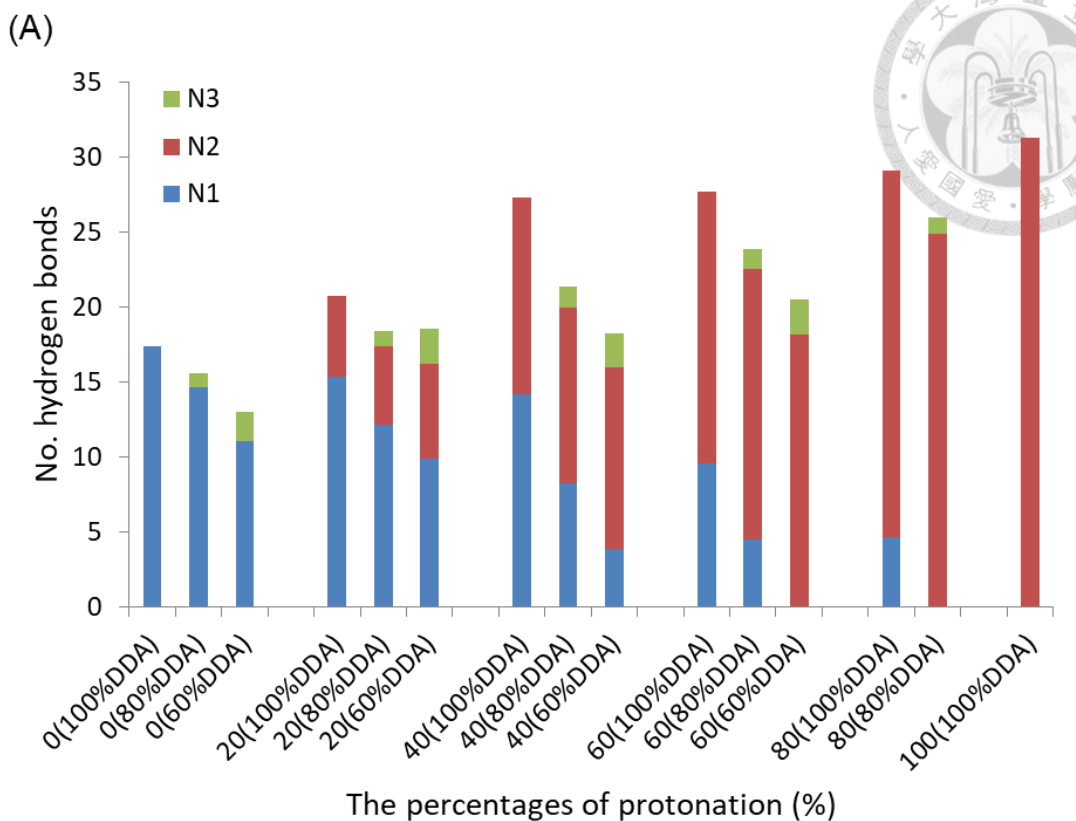


圖 4-12、(A)不同去乙酰度時，N1、N2 以及 N3 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化(B)不同去乙酰度時，N1、N2 以及 N3 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化

接著本研究探討位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 的含氧官能基，也就是先前

提及的 GC 主鏈上的 O1-main 以及 O2-main，以及這一章節新增的 O3 的部分，如圖 4-13。當固定 DDA 程度時，可以看到隨著質子化程度的上升，與水間氫鍵總數皆會下降。而在質子化程度較低時，總氫鍵數下降趨勢較為平緩。當質子化程度較高之後，總氫鍵數下降趨勢變得較為陡峭。而這一系列變化的原因與本研究在前一章探討 O1-main 以及 O2-main 的與水間氫鍵的原因是一樣的。主要是因為聚集現象的逐漸消失造成此一趨勢的變化。在低質子化程度的時候，由於聚集現象的關係，GC 分子鏈本身就會與其他 GC 分子鏈形成分子間氫鍵而使與水間氫鍵數稍微下降，因此受到質子化程度的影響就降低了而比較不明顯。而在高質子化程度的時候，由於聚集現象已經幾乎消失，所以受到質子化程度的影響較大而使下降趨勢更加明顯。而當固定在同一個質子化程度時，則可以發現到隨著 DDA 程度下降，O3 的總數逐漸上升，進而使的 O1-main、O2-main 以及 O3 與水間總氫鍵數上升。可以發現到 O3 相較於 O1-main 以及 O2-main 更容易與水形成穩定氫鍵，這一個發現與之前其他人在關於研究 WDPUs 的與水間氫鍵時，發現 WDPUs 上的羰基相較於其他含氧官能基，其與水間氫鍵發生率較高的結果是一致的。

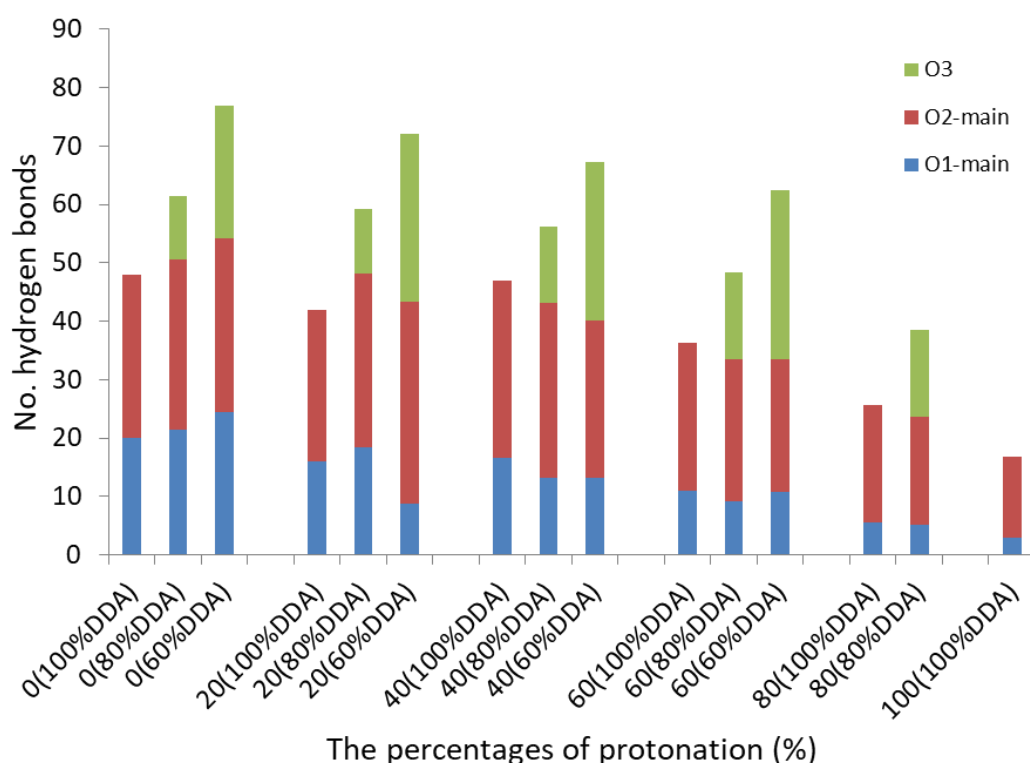



圖 4-13、不同去乙酰度時，O1-main、O2-main 以及 O3 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化



而為了更加清楚了解 DDA 程度與 pH 之間的關係，本研究在圖 4-14 中，將縱軸轉變為與水間氫鍵發生率後，分別對質子化程度以及 pH 作圖，分析 O1-main、O2-main 以及 O3 的變化趨勢。在圖 4-14A 中，比較不同 DDA 程度下，O1-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化。這裡可以發現隨著質子化程度上升，不同的 DDA 程度下都是下降且趨勢差異不大，且在低質子化程度時 O1-main 沒有受到聚集現象太大的影響的原因則是第三章所提過的結構障礙的原因。但在圖 4-14B 中，本研究將橫軸轉變為 pH 後，不同 DDA 程度之間有了明顯的差異。在圖 4-14B 中，可以發現當 pH 為酸性且為 4.5 時，DDA 程度越低所具有的總氫鍵發生率是越高的。主要是因為 DDA 程度下降時，可以被質子化的胺基數量就有所減少，因此在相同 pH 下所具有的被質子化的胺基數就較少。而從前一張結論可以得知，帶正電的胺基會大幅的減少周遭含氧官能基與水間氫鍵發生率。因此當 DDA 程度越低，受到帶正電胺基影響越低，進而減少趨勢較小，對 pH 變化反應也相對較小。而在圖 4-14C 中，則是比較不同 DDA 程度下，O2-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化。這裡可以發現 O2-main 在質子化程度較低時，氫鍵發生率幾乎沒有下降的趨勢，而隨著質子化程度較高後，開始有明顯的下降趨勢。而造成這一系列變化趨勢的原因就是本研究前面一直提到的聚集現象在質子化程度較高時開始消失的情況。由於這樣似乎無法比較不同 DDA 程度下的差異，在圖 4-14D 中，本研究將橫軸轉變為 pH 值。由圖中可以發現同樣在 pH 值為酸性環境且為 4.5 時，DDA 程度越低所具有的氫鍵發生率是越高的。這個原因如同前面 O1-main 一樣是因為同樣 pH 值下帶正電的胺基數量隨著 DDA 程度下降而下降。而在較為鹼性的環境下，質子化的胺基數量較低而影響低，並使聚集現象較為重要，因此在鹼性環境下隨著 pH 下降，發生率沒有太大變化。而當到了酸性環境下，聚集現象消失且質子化的胺基數量較多，因此帶正電的胺基對周遭 O2-main 影響極大而使較低 DDA 程度下具有較高的 O2-main 與水間氫鍵發生率。從以上 O1-main 以及 O2-main 兩個部位的氫鍵發生率的差異可以知道當 DDA 程度越低，pH 對其造成的與水間氫鍵變化影響越小，也表現出 DDA 程度較低者對 pH 較不敏感。

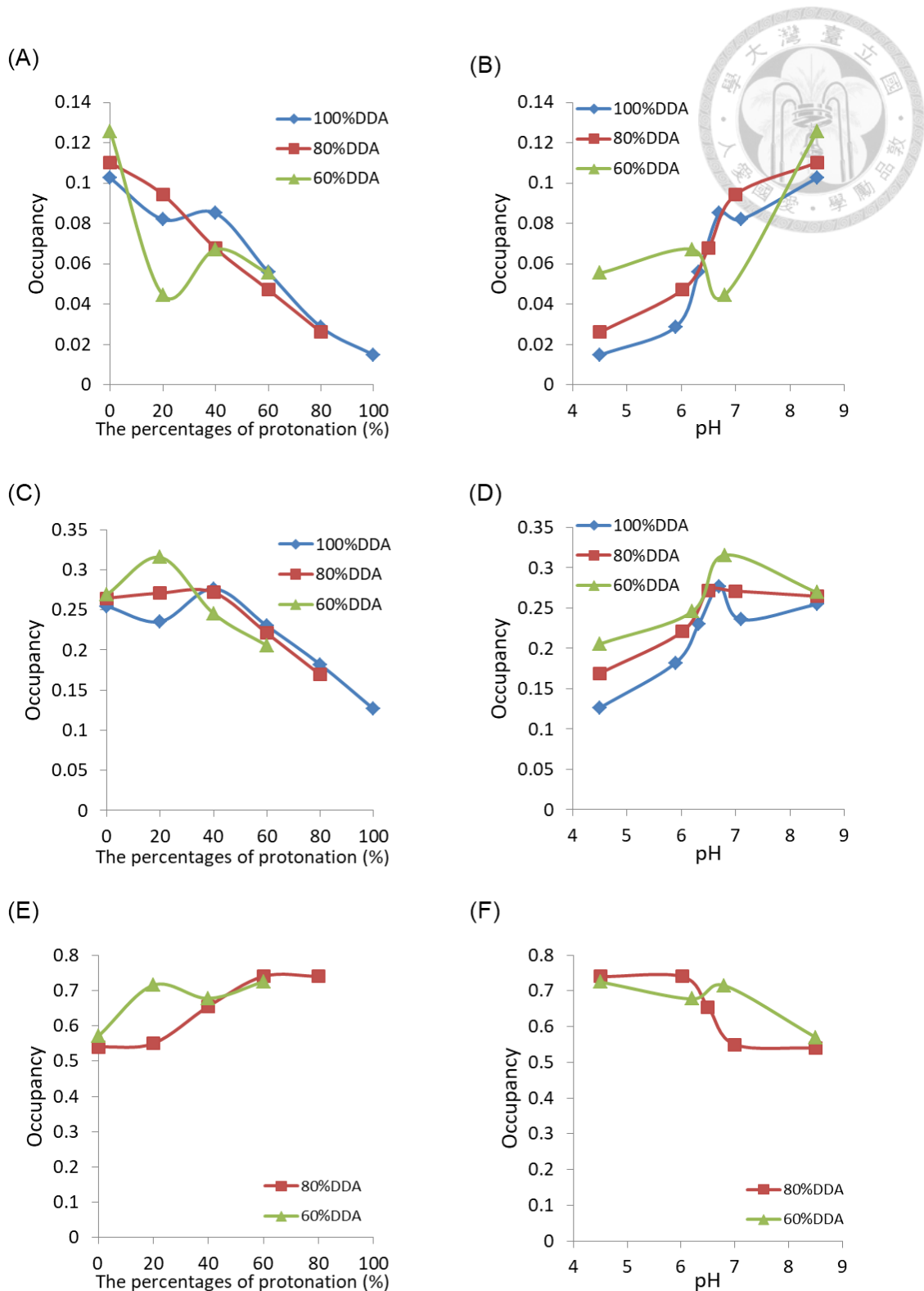


圖 4-14、不同去乙酰度下與水間氫鍵發生率之變化(A) O1-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(B) O1-main 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化(C) O2-main 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(D) O2-main 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化(E) O3 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(F)O3 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化

而在圖 4-14E 中，比較不同 DDA 程度下，O3 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化。由於 DDA 程度為 100% 時不具有乙醯基，因此不具有 N3 而不在圖表中。可以發現隨著質子化程度上升，不同 DDA 程度下的 O3 與水間氫鍵發生率都有一個上升的趨勢。這主要是因為聚集現象所造成的影響。質子化程度上升後，聚集現象的消失使與水間氫鍵發生率上升。在圖 4-14F 中，本研究將橫軸轉變為 pH 值。可以看到在不同 DDA 程度下，變化的趨勢並有太大的差異。這是因為 O3 所位於的結構位置為無法被質子化的胺基所接的乙醯基的羰基上，因此不會受到帶正電的胺基所影響。

再接著本研究探討位於 glycol groups 上的含氧官能基，也就是先前提及的 GC 主鏈上的 O1-side 以及 O2-side 的與水間氫鍵數，如圖 4-15。當固定 DDA 程度時，可以看到隨著質子化程度上升，O1-side 以及 O2-side 與水間氫鍵總數有些微的上升趨勢在質子化程度 20% 到 40% 之間。當固定質子化程度進而探討不同 DDA 程度時，並沒有發現太大或特定的變化趨勢。

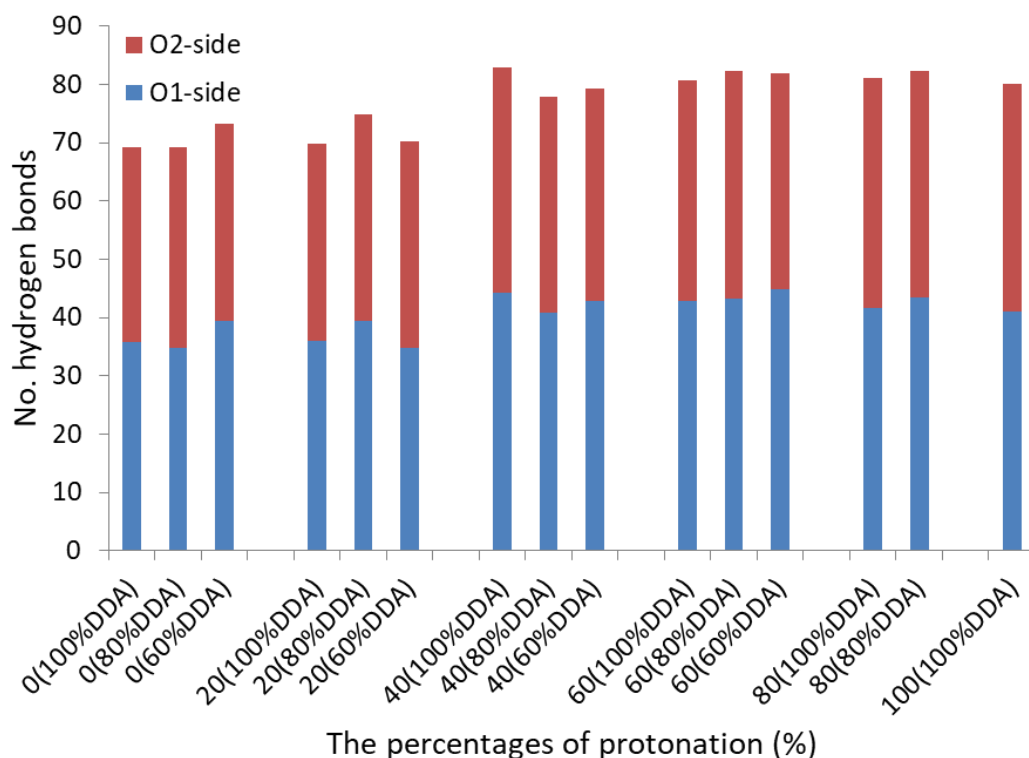



圖 4-15、不同去乙醯度時，O1-side、O2-side 與水間氫鍵總數隨著質子化程度變化

同樣為了更加清楚了解 DDA 程度與 pH 之間的關係，在圖 4-16 中，將縱軸轉



變為與水間氫鍵發生率後，分別對質子化程度以及 pH 作圖，分析 O1-side 以及 O2-side 的變化趨勢。在圖 4-16A 中，比較不同 DDA 程度下，O1-side 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化。可以明顯發現到，在質子化程度較低 (<40%) 時，由於上一章討論 O1-side 以及 O2-side 所提到的聚集效應的影響，與水間氫鍵發生率較低。但在質子化程度較高後，聚集效應消失，因此與水間氫鍵發生率變高。並且由於結構關係，O1-side 不會受到帶正電的胺基所影響，因此在高質子化程度時與水間氫鍵發生率沒有變化。比較不同 DDA 程度時的趨勢，同樣發現不同 DDA 程度的趨勢彼此之間並沒有甚麼差別。因此，在圖 4-16B 中本研究將橫軸轉換為 pH 值，這裡可以發現氫鍵發生率主要的變化範圍都是位於 pH 值 6 到 7 之間，其他 pH 範圍並沒有變化。而不同 DDA 程度之間的變化趨勢也沒有差異，因此 DDA 程度差異對 O1-side 似乎並沒有影響。而在圖 4-16C 中，比較不同 DDA 程度下，O2-side 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化。隨著質子化程度的上升，O2-side 的與水間氫鍵發生率只有些微的上升，不如在 O1-side 來的明顯，但都是受到聚集效應的影響。在圖中依然在不同 DDA 程度間沒有發現趨勢的差異。所以，在圖 4-16D 中同樣將橫軸轉換為 pH 值，同樣發現氫鍵發生率主要的變化範圍都是位於 pH 值 6 到 7 之間。而不同 DDA 程度之間的變化趨勢也沒有差異，因此 DDA 程度差異同樣對 O2-side 似乎並沒有影響。因此，可以知道 DDA 程度對側鏈上的含氧官能基與水間氫鍵的形成沒有影響，而質子化程度只有在聚集效應方面有間接地影響且影響範圍在較為中性的部分。而 O1-main、O2-main、O1side 以及 O2-side 在氫鍵總數及發生率的變化皆主要發生在 pH 為 6 到 7 之間，而在酸性以及鹼性環境下的則是幾乎不變。

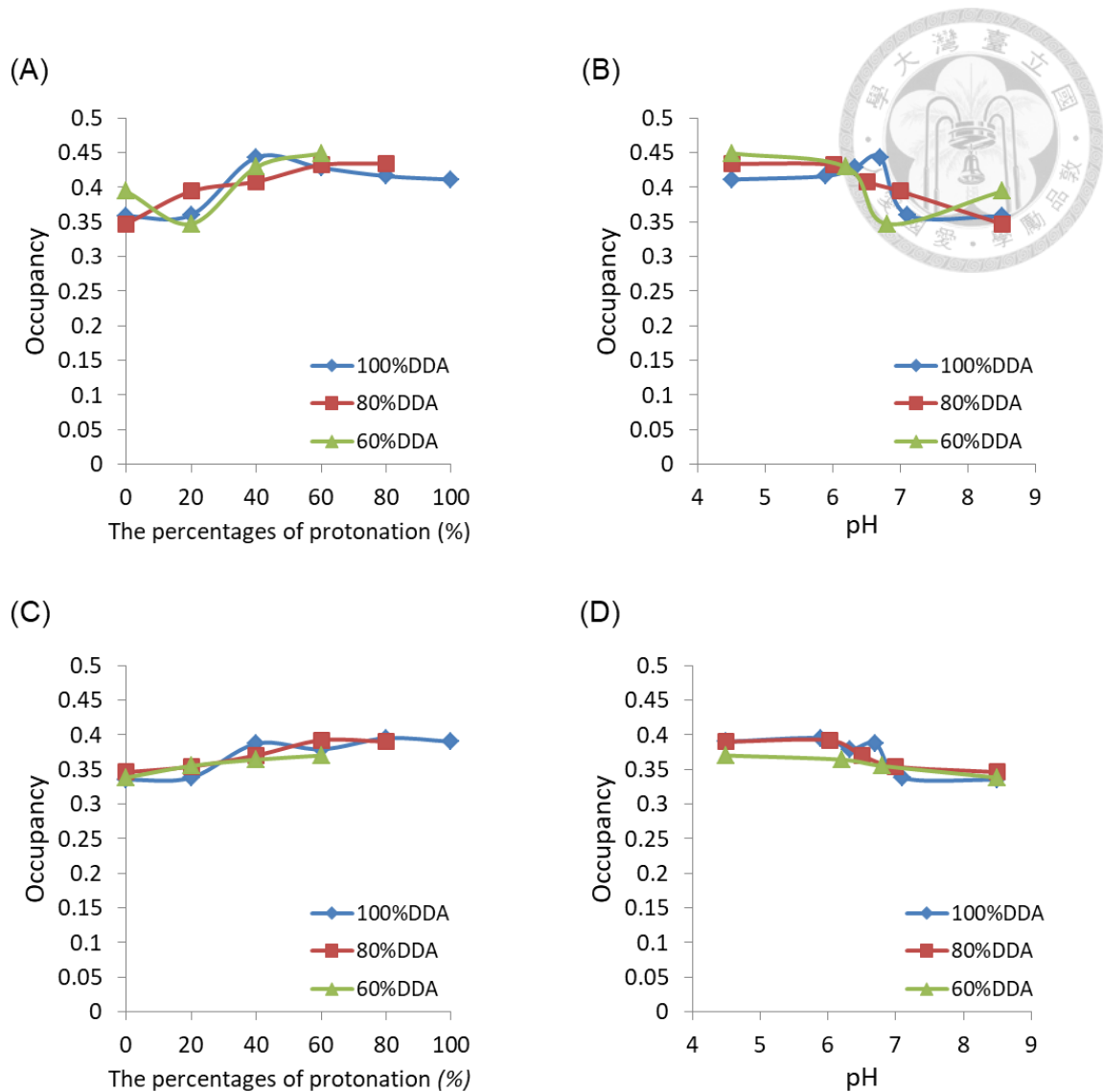


圖 4-16、不同去乙酰度下與水間氫鍵發生率之變化(A) O1-side 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(B) O1-side 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化(C) O2-side 與水間氫鍵發生率隨著質子化程度變化(D) O2-side 與水間氫鍵發生率隨著 pH 變化

最後，本研究將前面的與水間氫鍵總數綜合在一起來看總氫鍵數與 pH 值和 DDA 程度之間的關係，如圖 4-17。從這張圖可以看到當質子化程度相同時，DDA 程度越低，與水間氫鍵總數也越高。從前面的圖 4-12 可以知道由於 N3 數量隨著 DDA 程度下降而上升，而 N3 相較於 N1 以及 N2 更不容易形成氫鍵，因此三者相加與水間氫鍵總數隨著 DDA 程度下降而下降。而在圖 4-13 可以知道 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的 O1-main、O2-main 以及 O3 與水間氫鍵相加總數隨著 DDA 程度下降而上升。主要的差別在於 N3 數量隨著 DDA 程度下降而上升，而 O3 相較



於 O1 以及 O2 更容易形成氫鍵，因此三者相加與水間氫鍵總數隨著 DDA 程度下降而上升。而在 glycol groups 上的 O1-side、O2-side 與水間氫鍵總數在圖 4-15 中可以得知不受 DDA 程度所影響。而三者綜合起來的差異造成其 DDA 程度不同時，之間所有的差異。

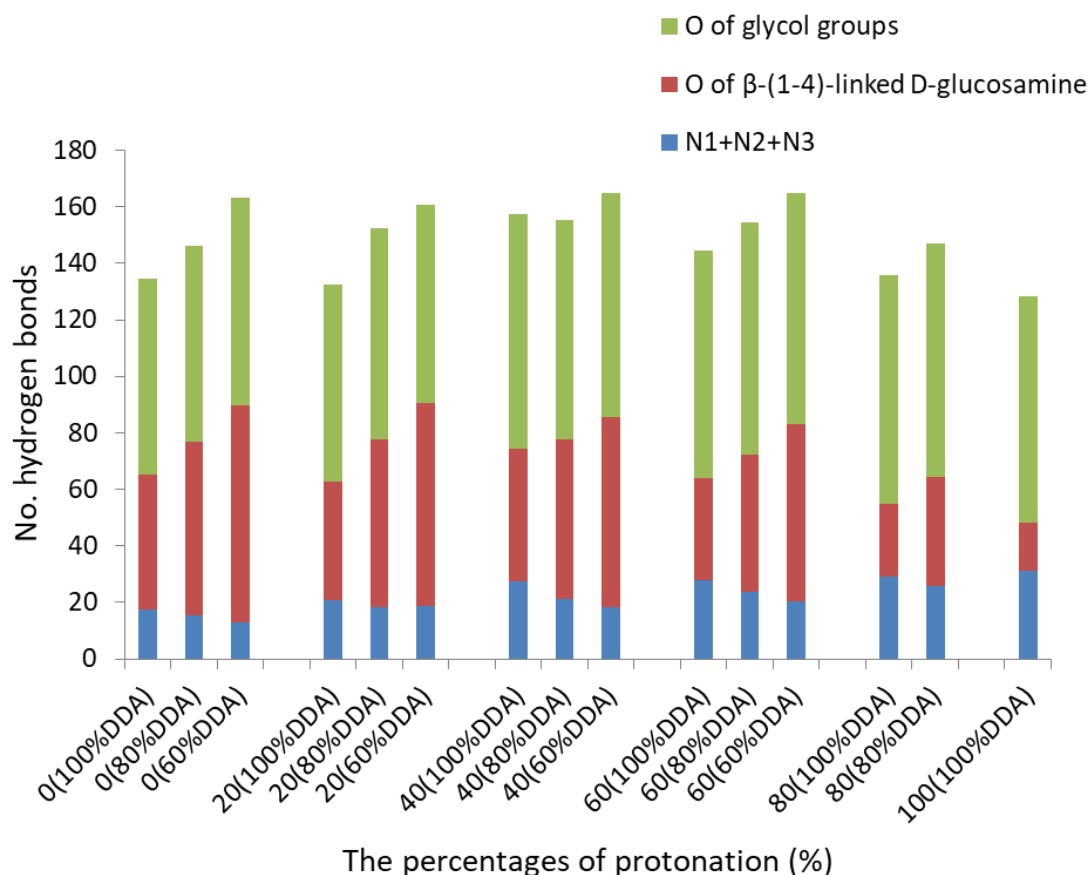


圖 4-17、不同去乙醯度時，乙二醇幾丁聚醣水膠與水間總氫鍵數隨著質子化程度變化

而本研究為了更加了解不同 DDA 程度下，不同的 pH 值與 GC 水膠與水間總氫鍵數變化關係，本研究將橫軸轉變為 pH 值，如圖 4-18。可以明顯到在圖 4-18 中看到，DDA 程度越低，與水間氫鍵總數也越高。而在看到 DDA 程度為 100% 時，在 pH 值 6 到 7 之間有一個明顯的山峰形態的趨勢存在，代表著這裡有一個與水間氫鍵總數的最大值存在，前一章提到這是凡得瓦力與靜電斥力之間競爭造成 GC 分子鏈排列變化以及帶正電的胺基周遭含氧官能基氫鍵發生率變化的造成的結果。而當 DDA 程度到 80% 之後，這個山峰型態的趨勢變得更為平緩而不明顯，pH 值改

變所造成的影響變得較低。最後當 DDA 程度到 60% 之後，雖然各部位官能基與水間氫鍵形成隨著 pH 依然有所變化，但 DDA 程度較低者在相同的 pH 變化範圍下，其氫鍵發生率變化差異較小，造成 GC 水膠與水間氫鍵總數已經幾乎沒有變化。隨著 DDA 程度的下降，與水間氫鍵總數對 pH 值改變的敏感性也較低。

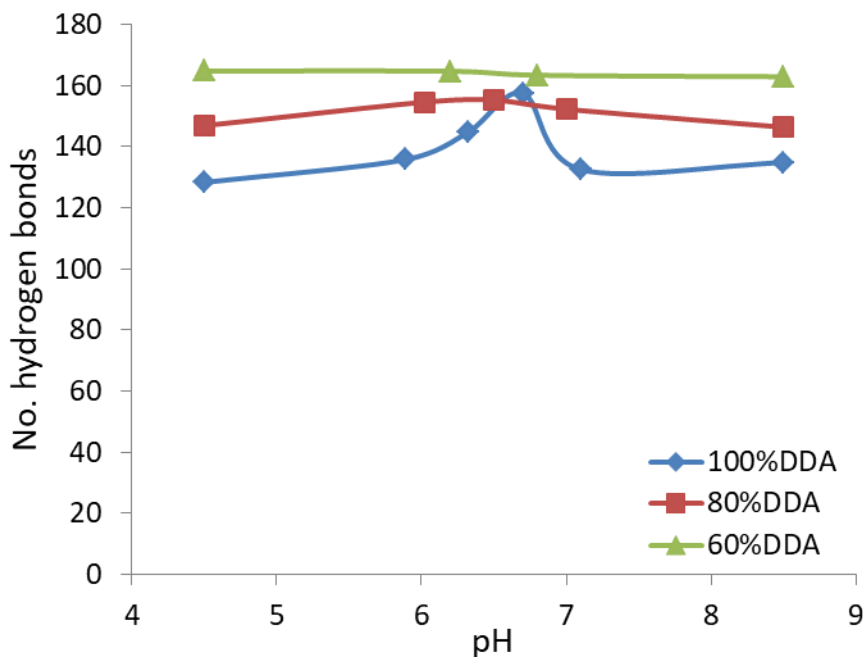


圖 4-18、不同去乙醯度時，乙二醇幾丁聚醣水膠與水間總氫鍵數隨著 pH 值變化

4.3 不同 pH 下，加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇的幾丁聚醣自癒合水膠模型之影響

在此一部分本研究以第三章的 100% DDA 程度的 GC 自癒合水膠模型為基礎模型，在不同質子化程度的模型下加入交聯劑 DF-PEG，希望可以藉由觀察 GC 以及 DF-PEG 之間的作用關係，以更加了解自癒合機制的如何運作。首先，先看到 GC 在 GC 自癒合水膠模型中頭尾端距隨質子化程度變化圖，如圖 4-19。這裡的 GC 自癒合水膠模型所取的頭尾端距平均值是模擬時間軸最後段的 1ns 的平均值。可以看到加入 DF-PEG 後，GC 的頭尾端距基本上沒有太大變化。而只有在質子化程度為 20% 明顯的較小。這是因為其模型剛好有一條 GC 分子鏈呈現對折的情況，而使整體平均值下降。再來，看到 GC 在 GC 自癒合水膠模型中 R_G 隨質子化程度變化圖，如圖 4-20。這裡所取的 R_G 平均值是模擬時間軸最後段的 1ns 的平均值。目前可以

看到在任何 pH 值情況下的 GC，其 R_G 不會隨著質子化程度不同而有任何變化趨勢。而與圖 4-3 沒有加交聯劑狀態下的 R_G 做一個比較，也發現到數值也是沒有太大差異的，目前可以知道加入交聯劑後在只有物理作用力的情況下對 GC 的頭尾端距以及 R_G 沒有甚麼影響。

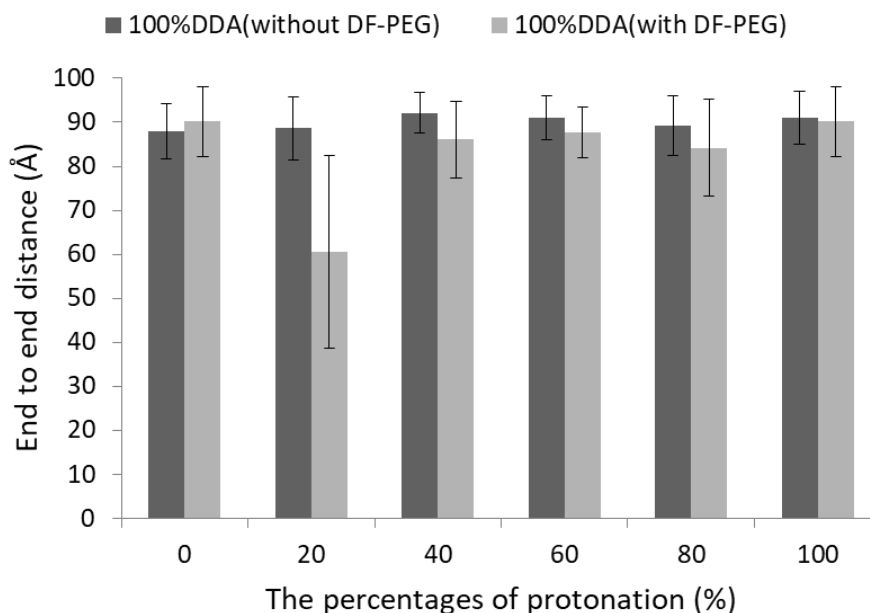


圖 4-19、乙二醇幾丁聚醣在自癒合水膠模型的頭尾端距隨質子化程度變化

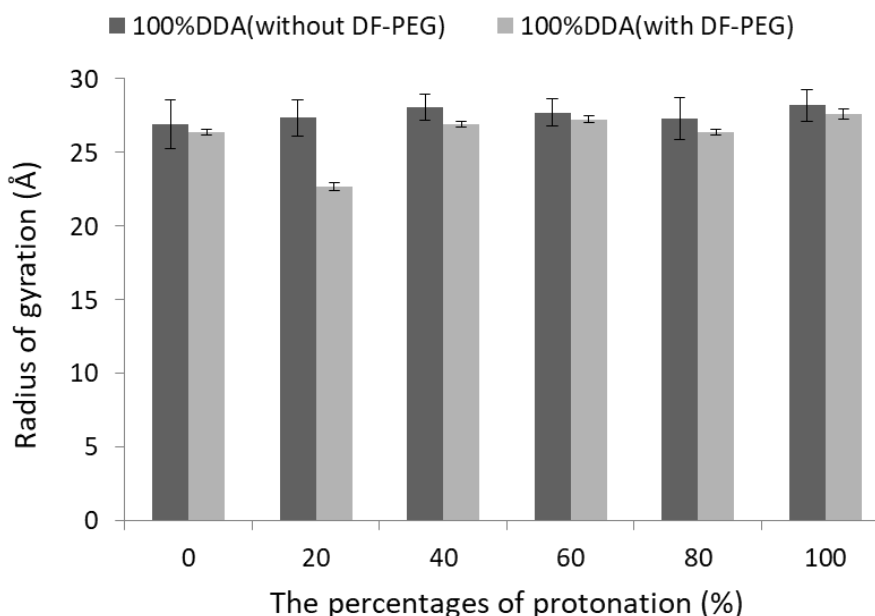
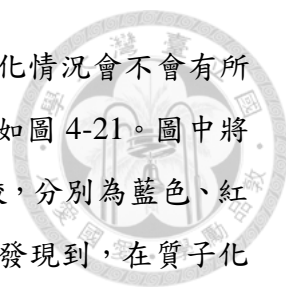


圖 4-20、乙二醇幾丁聚醣在自癒合水膠模型的 R_G 隨質子化程度變化

接著，在探討完了 GC 本身結構特性的變化之外，本研究也希望了解在不同的



質子化程度下，GC 在水膠的分布情況隨著 DF-PEG 的加入後變化情況會不會有所不同。首先，主要先用 VMD 影像截圖來觀察 GC 的分布情況，如圖 4-21。圖中將模型中五條不同的 GC 分別用五種顏色進行區分以方便進行比較，分別為藍色、紅色、綠色、紫色以及灰色，與圖 3-7 相同。從六張圖中互相比較發現到，在質子化程度為較低的 0% 以及 20% 的時候，GC 分子鏈互相一樣會有聚集現象的存在，DF-PEG 的存在會使得整個模型內 GC 的分布更像一個網狀結構。而到了 40% 之後，在第三章中的 GC 水膠中質子化程度為 40% 的圖（圖 3-7C）中，原本圖 3-7C 中的 GC 分子鏈彼此間只有稍微的接觸，但可以在圖 4-21C 中看到 DF-PEG 的存在使得紅、紫兩個顏色的 GC 分子鏈幾乎完全聚集再一起。而在質子化程度為 60%、80% 以及 100%（圖 4-21D、E 以及 F）中，依然可以稍微看到 DF-PEG 會使 GC 分子鏈有部分會被 DF-PEG 抓住而彼此靠近，進而使得模型整體結構更像一個網狀結構。只是，隨著質子化程度上升，連接再一起的地方會變得更少。而 DF-PEG 作為交聯劑，目前看到 DF-PEG 在模型中主要以四種型態存在著，如圖 4-22 所示。圖 4-22A 中 DF-PEG 連接在兩條 GC 分子鏈之間並抓住兩者形成網絡，在低質子化程度時存在比例較多。圖 4-22B 中 DF-PEG 也是連接在兩條 GC 分子鏈之間，但是位於兩者頭或尾的位置去抓住 GC 分子鏈，在高質子化程度時由於 GC 分子鏈較為分散，圖 4-22A 的型態很少或幾乎不存在，因此 GC 分子鏈間的連接情況多以圖 4-22B 形態存在。圖 4-22C 中 DF-PEG 則是吸附在一條 GC 分子鏈上而沒有連接另一條 GC 分子鏈。圖 4-22D 中的 DF-PEG 則是沒有吸附或抓住任何一條 GC 分子鏈並自己聚集在一起。

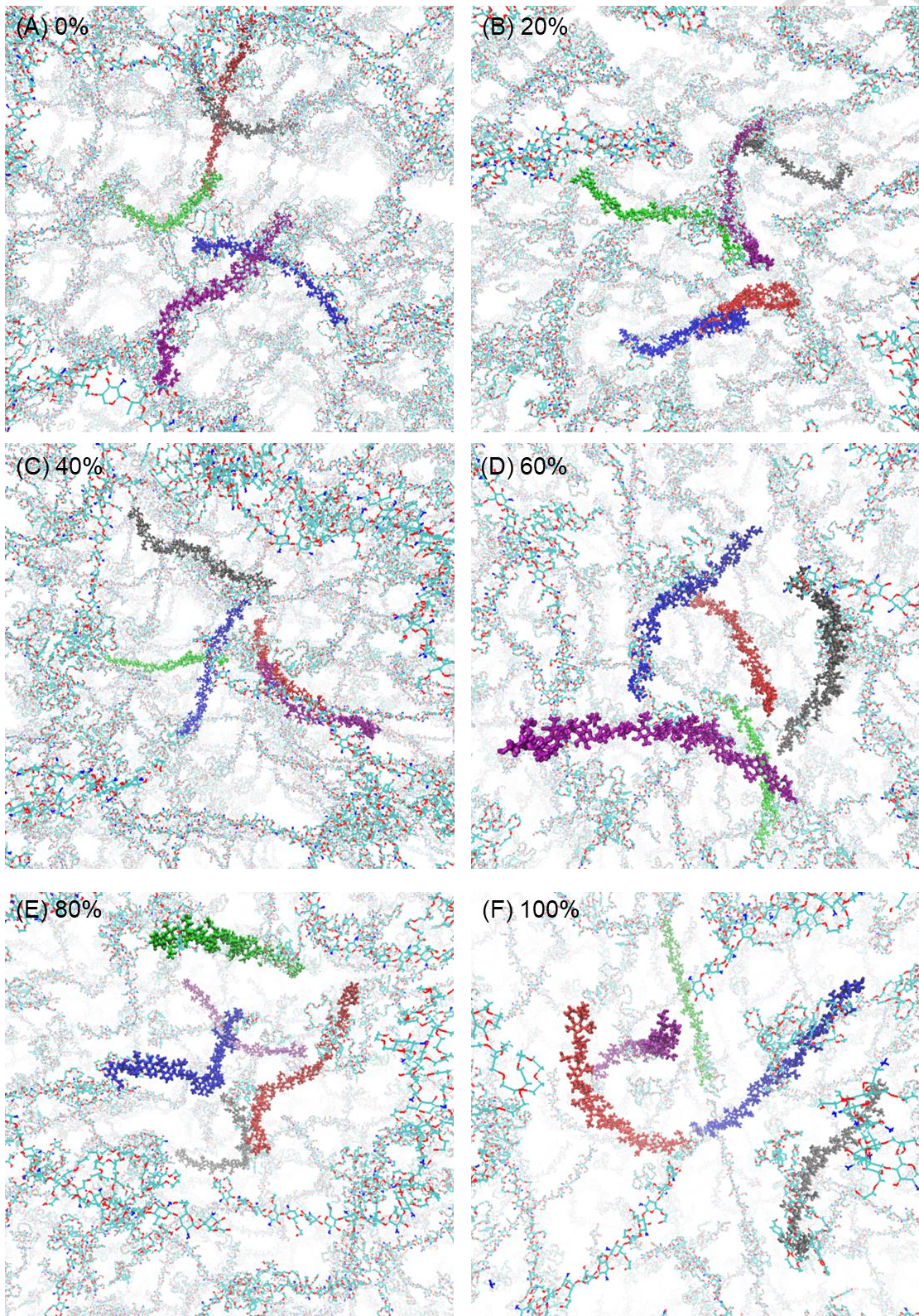


圖 4-21、不同質子化程度下的加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇後乙二醇幾丁聚醣水膠模型 VMD 影像截圖

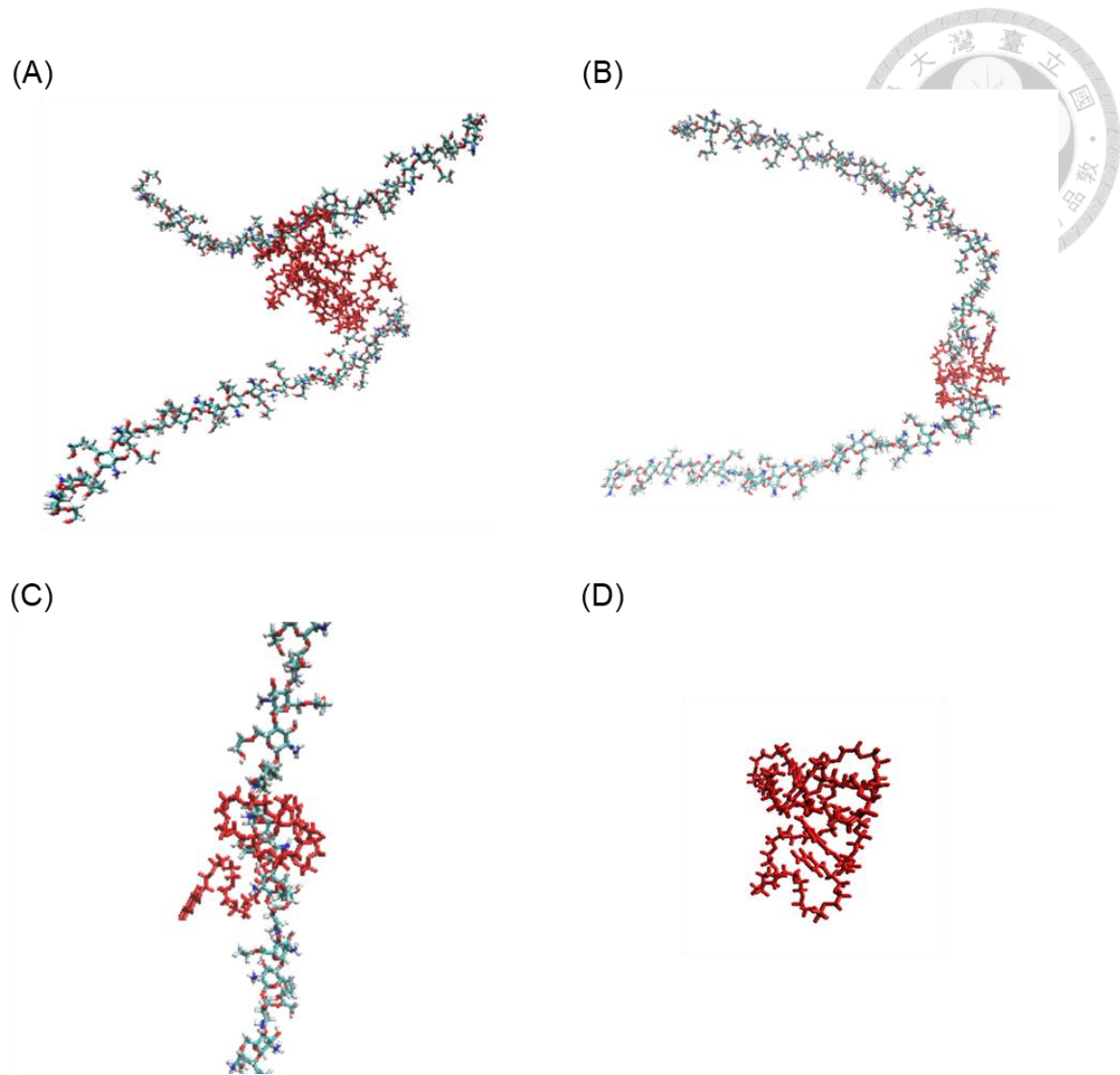
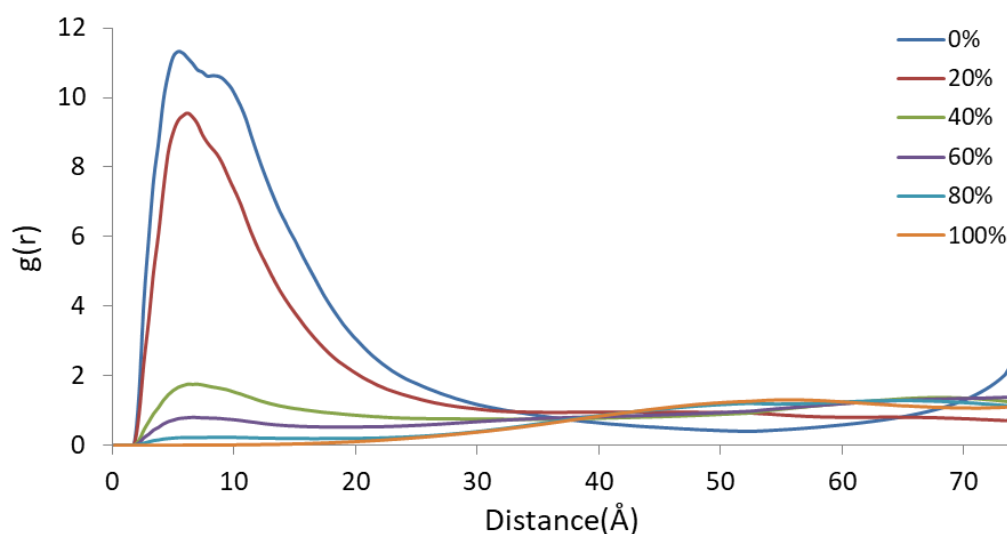


圖 4-22、在所有加入遙爪雙官能基聚乙二醇的乙二醇幾丁聚醣水膠模型中，遙爪雙官能基聚乙二醇（圖中以紅色表示）存在的四種型態(A)兩條乙二醇幾丁聚醣分子鏈之間(B)兩條乙二醇幾丁聚醣分子鏈的頭尾之間(C)吸附在單條乙二醇幾丁聚醣分子鏈上(D)自身聚集成一團

在知道了 DF-PEG 確實可以幫助 GC 分子鏈形成網絡的結構，這裡也分析了加入 DF-PEG 的 GC 水膠模型的 RDF 並與第三章中的沒有加入 DF-PEG 的 GC 水膠模型進行比較，如圖 4-23。圖 4-23A 的模型為沒有加入 DF-PEG 的 GC 水膠模型，圖 4-23B 則為加入 DF-PEG 的 GC 水膠模型。比較兩者可以看到在質子化程度為 0% 以及 20% 時，DF-PEG 的存在使得 GC 分子鏈更像一個網絡結構，因此減低了纖維狀的聚集現象的形成而使在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值高度在加入 DF-PEG 後下降。而在質子化程度為 40% 時加入了 DF-PEG 後距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值反而稍微的上升，

是因為 DF-PEG 抓住 GC 分子鏈後使原本應該更分散的 GC 分子鏈靠得更近而使峰值上升。而在質子化程度為 60%、80% 以及 100% 則是沒有太明顯的變化，原因可能為二，一是 DF-PEG 與 GC 分子鏈間的物理作用力不足以抵抗質子化後的 GC 分子鏈的靜電作用力並抓住多條 GC 分子鏈形成網絡，隨即形成在圖 4-21 看到的情況；二是由於本研究的模型模擬時間較短且還沒有達到平衡，因此比較不太出差異。

(A)



(B)

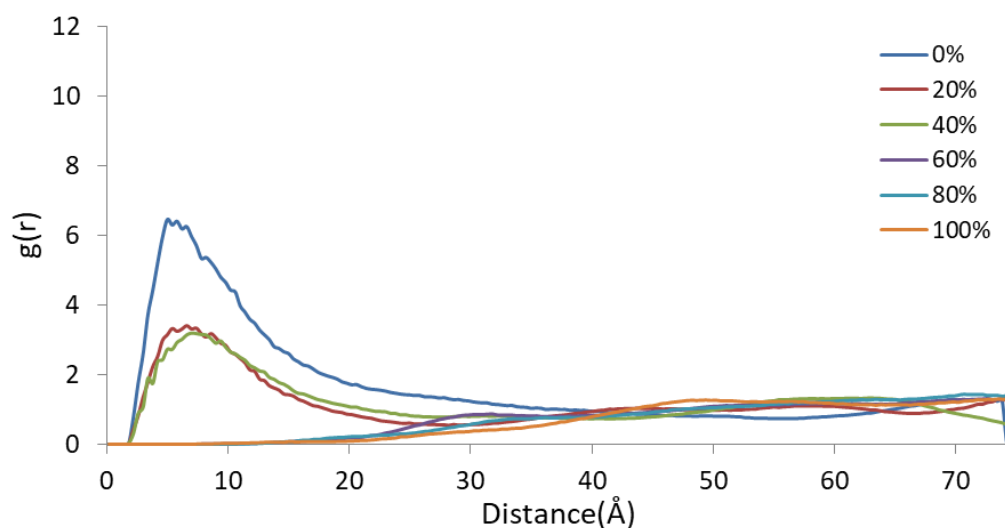


圖 4-23、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度之 RDF (A) 沒有加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇 (B) 有加入交聯劑遙爪雙官能基聚乙二醇

而在這邊本研究還額外做了黏度的分析，觀察有無加入 DF-PEG 以及不同質子化程度下的黏度變化，如圖 4-24。在圖 4-24 先將目光放在 100%、80% 以及 60% 三種 DDA 程度下（依序為藍、紅以及綠），尚未加入 DF-PEG 時的黏度，可以發現到沒有加入 DF-PEG 的模型中，即使是在不同的質子化程度以及 DDA 程度下，彼此之間的黏度值基本是相差不多，且其值與本研究所測量的水的黏度也相差不多。而接著將目光放在了加入了 DF-PEG 後的 100% DDA 程度下（顏色為紫色）的 GC 水膠模型在不同質子化程度下的黏度。可以發現其值相較前面三者的模型還要多出許多，這一個差距證明了 DF-PEG 利用物理作用力，幫助 GC 分子鏈形成的更穩定的網絡結構，進而使黏度大幅上升，即便本研究尚未模擬出自癒合機制。而其質子化程度的逐漸上升，可以發現到黏度也隨之逐漸下降。如同本研究在前面 VMD 截圖以及 RDF 的分析一般。隨著質子化程度上升，由於靜電作用力的上升，使得 DF-PEG 提供的凡得瓦力等物理作用力不夠抵抗靜電作用力，而使網絡結構被破壞而不易形成，進而造成黏度的下降。

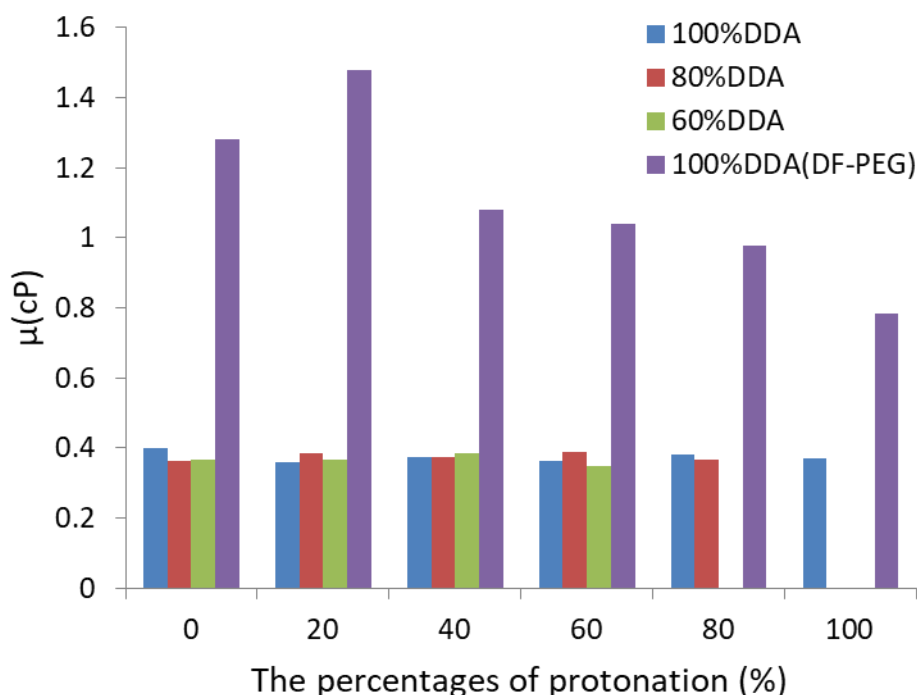



圖 4-24、乙二醇幾丁聚醣水膠在不同質子化程度、不同去乙醯度以及有無加入遙爪雙官能基聚乙二醇下之黏度

透過前面的 RDF 以及黏度分析可以知道加入了 DF-PEG 確實會幫助 GC 分子



鏈形成網絡結構，增強了機械性質並形成水膠。而本研究建立此一模型的目的是要得知自癒合機制的運作，而自癒合機制中形成動態共價鍵的化學反應發生於 GC 分子鏈上的胺基以及 DF-PEG 頭尾兩端的羰基，因此本研究針對這兩者之間的作用關係進行分析。首先分析了胺基周遭 DF-PEG 頭尾兩端的羰基的數量變化，如圖 4-24。本研究在不同的質子化程度下，計算了在 GC 的胺基周遭 5 Å 以內的 DF-PEG 頭尾兩端的羰基總數隨著時間的變化。圖 4-24A 中，當質子化程度為 0% 時，可以清楚看到隨著模擬時間越長，GC 的胺基周遭的 DF-PEG 頭尾兩端的羰基總數隨之上升。代表著越來越多的 DF-PEG 頭尾兩端的羰基靠近 GC 的胺基。而當質子化程度達到 20%、40% 以及 60% 時，GC 的胺基周遭的 DF-PEG 頭尾兩端的羰基總數同樣隨著時間越長而上升，但是周遭的數量明顯的低於質子化程度為 0% 時。而當質子化程度達到 80% 以及 100% 時，上升的趨勢明顯的下降到幾乎平緩的狀態。這代表著在質子化程度越高的時候，GC 上的胺基與 DF-PEG 頭尾兩端的羰基更不容易靠近，或許會造成不易有動態共價鍵的形成，不利於自癒合機制的運行。

為了更清楚這個發現，另外也分析 GC 上的胺基與 DF-PEG 頭尾兩端的羰基之間的分間氫鍵數隨著不同質子化程度下的變化，如圖 4-25。這裡的數值是取最後的 1ns 進行平均的動作得到的數值，基本可以清楚看到，不管在任何的質子化程度下，GC 上的胺基與 DF-PEG 頭尾兩端的羰基之間形成的分間氫鍵都是等於或是趨近於零的。這代表著吸引著 GC 上的胺基與 DF-PEG 頭尾兩端的羰基彼此之間靠近的因素不是分間氫鍵，自癒合機制的運行與分間氫鍵沒有太大關聯。

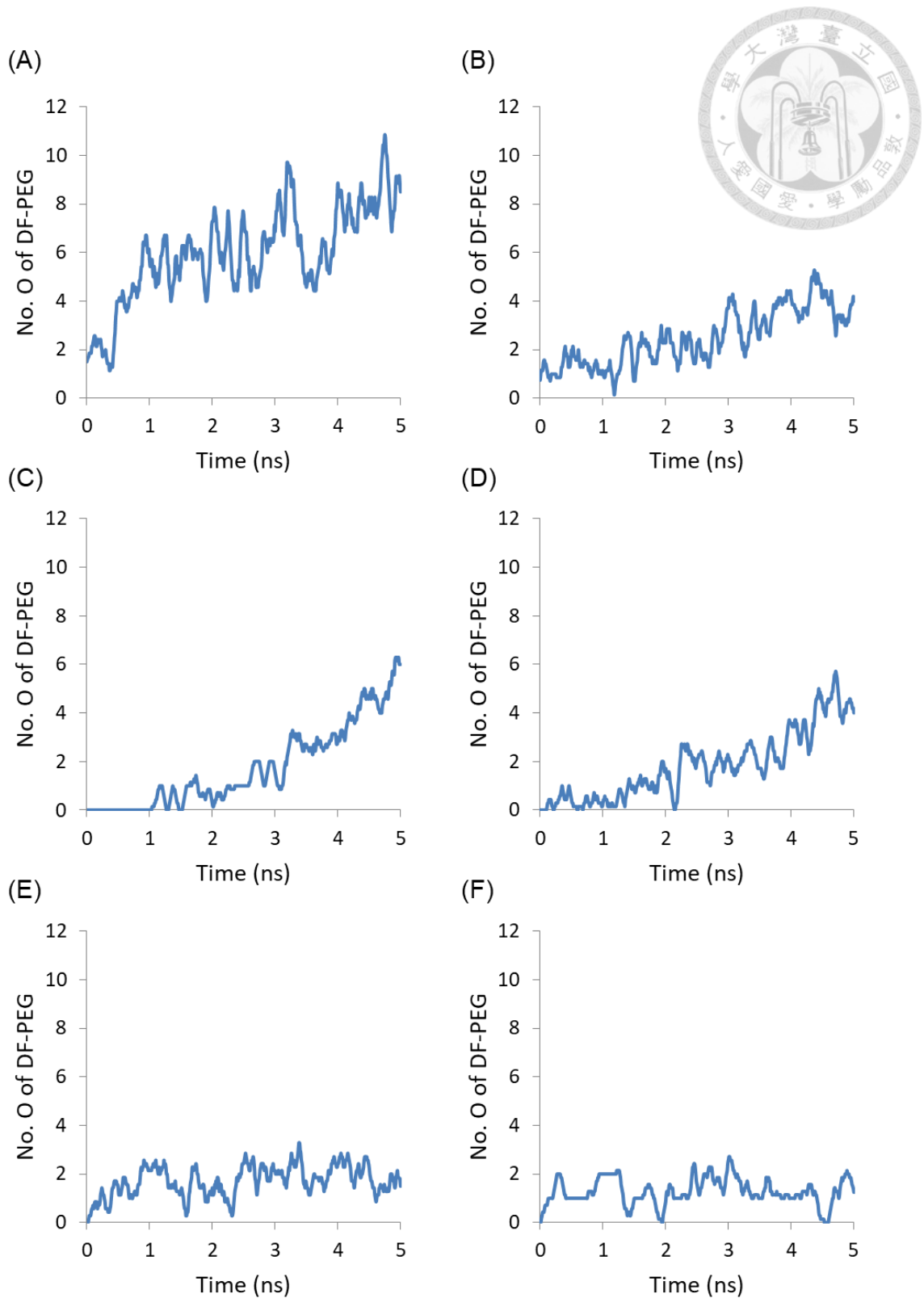


圖 4-25、不同質子化程度下乙二醇幾丁聚糖的胺基周圍 5 \AA 以內的的遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端羰基數量隨時間變化(A)質子化程度為 0% (B)質子化程度為 20% (C)質子化程度為 40% (D)質子化程度為 60% (E)質子化程度為 80% (F)質子化程度為 100%

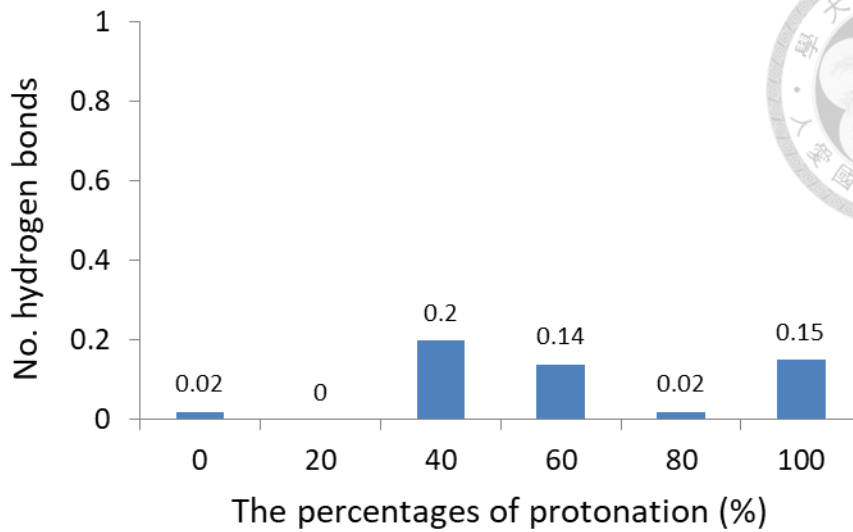



圖 4-26、乙二醇幾丁聚醣上的胺基與遙爪雙官能基聚乙二醇頭尾兩端的羰基之間
的分子間氫鍵數隨著不同質子化程度下的變化

4.4 討論

本研究比較了不同 DDA 程度下的 GC 水膠模型在不同質子化程度時的差異，由於不同的 DDA 程度的 GC 可質子化的胺基總數不同，因此在相同的質子化程度下，不同的 DDA 程度的 GC 水膠模型具有不同 pH 值。因此這裡不僅從質子化程度角度分析數據，也從 pH 角度分析數據。本研究首先比較了頭尾端距以及 R_G 的分析結果，發現到儘管 DDA 程度不同，但對頭尾端距以及 R_G 並沒有太大的差異，只有在頭尾端距發現到 DDA 程度較低者隨著 pH 值上升，有較明顯的下降趨勢。造成這些結果的可能原因是因為乙二醇提供了良好的親水性而使其在水膠中的型態差異不大，但 DDA 程度較低者在鹼性環境下較不容易溶於水，因此親水性較差而較不延展。而在 RDF 的部分，不同 DDA 程度下的 GC 皆會隨著質子化程度上升而逐漸分散。DDA 程度較低的 GC 分子鏈在質子化程度為 0% 時(鹼性環境下)，在代表聚集發生的峰值由於胺基部分的結構關係而排列得較鬆散一點而使高度較低一點。而在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的 RDF 峰值線下面積在酸性環境下，DDA 程度為 60% 依舊有著峰值面積的存在，代表 GC 分子鏈彼此之間依舊有所接觸，代表同樣酸性的 pH 環境下比較不容易完全分散開而有些微聚集。而隨著 DDA 程度越低者，代表完全分散的距離 $> 50 \text{ \AA}$ 的 RDF 峰值位置較遠也較不明顯。



而比較不同的 DDA 程度下的 GC 分子鏈自身之間以及與水間氫鍵數隨著 pH 變化。GC 自身的分子間以及分子內氫鍵分析結果顯示，DDA 程度越低者，需要在越酸性的環境下才會有所下降，可能是因為排列較為接近固體時的結晶排列而不溶於水才導致，與幾丁質比幾丁聚醣更不容易溶於酸性溶液的實驗結果相呼應。而在 GC 分子鏈的胺基與水間氫鍵的形成，接有乙醯基的胺基由於本身極性以及結構關係，相較於質子化後的胺基以及未質子化的胺基，更不容易形成水間氫鍵。而在 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的含氧基團，在同一質子化程度下，隨著 DDA 程度下降，總氫鍵數因為 O3 總數越多而上升。而隨著 pH 下降，不同 DDA 程度的 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的含氧基團與水間氫鍵數皆會隨之下降。而本研究還發現到，主要下降的趨勢區域落於 pH 6 到 7 之間，代表與水間氫鍵的變化主要是在接近中性環境的 pH 部分。而在越酸性或越鹼性的環境下氫鍵發生率對 pH 的變化反而比較不敏感。而在 DDA 程度越低者， β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的 O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵發生率總變化趨勢較小，代表了其對 pH 的變化可能比較不敏感。O3 則是因為結構位置而不受帶正電的胺基所影響，其氫鍵發生率只受到聚集效應所影響。而在 glycol groups 上的含氧官能基團與水間氫鍵的部分，則是如同第三章結果一樣，不管在多少 DDA 程度下，都不受到靜電作用力影響而只受到聚集效應影響。而不同 DDA 程度也沒有太大差異，代表 glycol groups 不受到 DDA 程度以及質子化程度而影響其作用。而在 GC 與水間總氫鍵數的數據，表現 DDA 程度越低，與水間氫鍵數越高，但是其對 pH 的變化趨勢也越不明顯，代表對 pH 的敏感性也隨之將低。

而在加入交聯劑對 GC 水膠的影響分析中，加入交聯劑後 GC 分子鏈的頭尾端距以及 R_G 並沒有受到影響而變化。但在 RDF 的分布變化則是有著明顯的變化。當質子化程度較低時，相較於沒有加入交聯劑的 GC 水膠模型，GC 由於 DF-PEG 的作用而分布的更像一個網絡結構，因此 RDF 在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值較低。而在較高質子化程度時，相較於沒有加入交聯劑的 GC 水膠模型，由於 DF-PEG 的作用而使完全分散的 GC 分子鏈被 DF-PEG 抓住而彼此靠得更近並形成網絡，因此 RDF 在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的峰值較高。而在黏度的分析上，加入交聯劑後的 GC 自癒合水膠表現出遠大於沒有加入交聯劑的不同 DDA 程度下 GC 水膠的黏度值，代表加入了 DF-PEG 後，儘管尚未進行化學交聯，依然對水膠結構有影響。而隨著質子化程度

上升，黏度也隨之下降，代表 DF-PEG 與 GC 分子鏈的物理作用力在高質子化程度下無法抵抗靜電作用力。而為了瞭解自癒合機制如何運作，本研究還測量了 GC 上的胺基與 DF-PEG 頭尾兩端的羰基之間的分子間氫鍵數，發現並沒有任何關聯。但是 GC 的胺基周圍 5 Å 以內的 DF-PEG 頭尾兩端羰基數量隨著模擬進行而有著明顯上升，代表兩者之間確實有著一定作用力存在。而隨著質子化程度上升，數量逐漸減少，高質子化程度或許不利於自癒合機制的進行。

第5章、 結論與未來展望




5.1 結論

本研究中透過分子動力模擬，並透過氫鍵， R_G 與頭尾端距等分析模擬結果，來分析不同的質子化程度下 GC 水膠的結構以及性質差異。再來透過氫鍵， R_G 與頭尾端距等分析與 pH 之間的關係，比較在不同質子化程度以及不同 DDA 程度下的 GC 水膠模型之間的結構差異，並與第 3 章的結果做一個整合與比較。接著，則是比較在不同質子化程度下，加入交聯劑 DF-PEG 到 GC 水膠模型中，以期了解 GC 自癒合水膠的自癒合機制。所得重要結論如下，分為三類：

一、DDA 程度為 100% 時，質子化程度對 GC 水膠模型的影響：

1. GC 分子鏈相較於幾丁聚醣在水中具有較大的 R_G 值以及乙二醇的存在使 GC 與水間氫鍵幾乎兩倍於幾丁聚醣，表明了 GC 分子鏈具有比幾丁聚醣還要高的親水性。
2. 當質子化程度低於 40% 時 (pH 為中性並接近鹼性時)，GC 自身的凡得瓦力佔主導地位；當質子化程度高於 40% 時 (pH 接近酸性時)，自身的靜電斥力佔主導地位。隨著質子化程度的增加，GC 分子鏈在水膠會更趨向於分散開。
3. 水溶液的存在屏蔽了帶正電的胺基的靜電作用力，並且抵銷 GC 自身凡得瓦力的作用力而使原本在低質子化程度在真空中趨向收縮的型態延展開。
4. 當 pH 為中性並逐漸趨向於鹼性時，GC 分子鏈較為柔軟並且有聚集以及部分聚集現象導致了較高的膨潤性質。而在酸性環境下 GC 的稍微收縮行為以及幾乎完全分散的分布導致了較低的膨潤性質。
5. 質子化後的胺基具有比未質子化的胺基更穩定的與水間氫鍵而造成了較高的氫鍵發生率。而質子化後的胺基會破壞周遭 GC 分子鏈上的含氧官能基團與水之間的氫鍵形成而造成了其較低的氫鍵發生率。
6. 當質子化程度小於 40% 時，位於 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的含氧官能基與水間氫鍵數幾乎不會隨著質子化程度有所變化。當質子化程度大於 40% 時，與水間氫鍵開始隨著質子化程度上升而明顯的下降。

- 
- glycol groups 上的含氧官能基與水間氫鍵不會隨著質子化程度上升而有所變化，但是依舊會受到凡得瓦力所影響
 - GC 與水間總氫鍵數上，在質子化程度小於 40% 時不隨著質子化程度上升有所的變化，當質子化程度大於 40% 時隨著質子化程度上升其總數隨之下降；這兩個結果表現出了此 GC 水膠模型在質子化程度大於 40%（朝酸性環境接近）時具有 pH 敏感度。

二、DDA 程度對 GC 水膠模型在不同質子化程度時的影響：

- 在距離 $< 10 \text{ \AA}$ 的 RDF 峰值線下面積在酸性環境下，DDA 程度為 60% 依舊有著峰值面積的存在，代表同樣酸性的 pH 環境下比較不容易完全分散開而有些微聚集。
- GC 自身的分子間以及分子內氫鍵分析結果顯示，DDA 程度越低者，需要在越酸性的環境下才能溶於水中
- 接有乙醯基的胺基由於本身極性以及結構關係，相較於質子化後的胺基以及未質子化的胺基，更不容易形成水間氫鍵。
- 本研究發現到，不同 DDA 程度的 β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的含氧基團與水間氫鍵發生率隨著 pH 下降，含氧基團與水間氫鍵發生率隨之下降的主要變化趨勢區域皆落於 pH 6 到 7 之間，代表與水間氫鍵的變化主要是在接近中性環境的 pH 部分。
- DDA 程度越低者， β -(1-4)-linked D-glucosamine 上的 O1-main 以及 O2-main 與水間氫鍵發生率總變化趨勢較小，代表了其對 pH 的變化可能比較不敏感。
- glycol groups 上的含氧官能基團與水間氫鍵的部分，不管在多少 DDA 程度下，都不受到靜電作用力影響而只受到聚集效應影響，表現出 glycol groups 不受到 DDA 程度影響。
- GC 與水間總氫鍵數的數據，表現 DDA 程度越低，雖然與水間氫鍵數越高，但是其對 pH 的變化趨勢也越不明顯，代表對 pH 的敏感性也隨之將低。

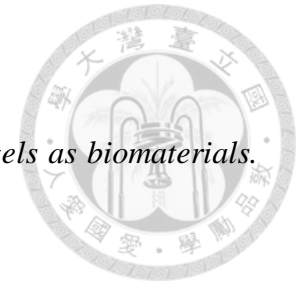
三、交聯劑 DF-PEG 加入不同質子化程度下之 GC 水膠模型：

1. 當質子化程度較低時，相較於沒有加入交聯劑的 GC 水膠模型，GC 由於 DF-PEG 的作用而分布的更像一個網絡結構。而在較高質子化程度時，相較於沒有加入交聯劑的 GC 水膠模型，由於 DF-PEG 的作用而使完全分散的 GC 分子鏈被 DF-PEG 抓住而彼此靠得更近並形成網絡。
2. 在黏度的分析上，加入交聯劑後的 GC 自癒合水膠表現出遠大於沒有加入交聯劑的不同 DDA 程度下 GC 水膠的黏度值，代表加入了 DF-PEG 後，儘管尚未進行化學交聯，依然對水膠結構有影響。而隨著質子化程度上升，黏度也隨之下降，代表 DF-PEG 與 GC 分子鏈的物理作用力在高質子化程度下無法抵抗靜電作用力。
3. GC 的胺基周圍 5 Å 以內的 DF-PEG 頭尾兩端羰基數量隨著模擬進行而有著明顯上升，代表兩者之間確實有著一定作用力存在。而隨著質子化程度上升，數量逐漸減少，高質子化程度或許不利於自癒合機制的進行。

5.2 未來展望

透過了解在不同 pH 環境下的 GC 水膠的結構特性，可以幫助我們更了解 GC 水膠的膨潤行為與其結構特性之關係。而在了解了不同質子化程度下 GC 分子鏈與彼此之間和與水間之間作用力的關係變化以及 DDA 程度對 GC 水膠結構特性的影響後，將水膠模型與小分子藥物做結合進行藥物載體的探討，為我們在未來有關水膠的生醫材料設計奠定更好的基礎。同時與功能性蛋白質結合在一起進行探討，更加了解 GC 水膠在生物體中的作用。並且，希望透過 GC 自癒合水膠的模擬，初步了解自癒合機制的運作，並期許在未來也能夠透過分子動力模擬，利用 DDA 程度以及質子化程度的探討結果，建立更完善的 GC 水膠模型探討自癒合機制的運作。

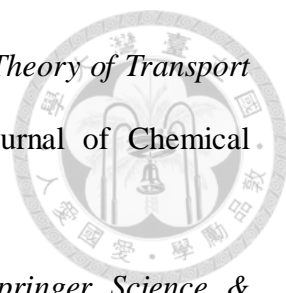
參考文獻



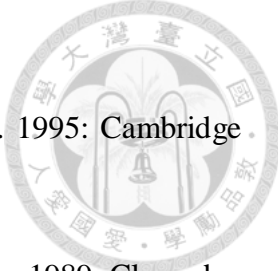
1. Augst, A.D., H.J. Kong, and D.J. Mooney, *Alginate hydrogels as biomaterials*. *Macromol Biosci*, 2006. **6**(8): p. 623-33.
2. Caló, E. and V.V. Khutoryanskiy, *Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products*. *European Polymer Journal*, 2015. **65**: p. 252-267.
3. Ullah, F., et al., *Classification, processing and application of hydrogels: A review*. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015. **57**: p. 414-33.
4. Ahmed, E.M., *Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review*. *J Adv Res*, 2015. **6**(2): p. 105-21.
5. Wichterle, O. and D. LÍM, *Hydrophilic Gels for Biological Use*. *Nature*, 1960. **185**: p. 117.
6. Ottenbrite, R.M., K. Park, and T. Okano, *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. Springer Science & Business Media, 2010.
7. Drury, J.L. and D.J. Mooney, *Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications*. *Biomaterials*, 2003. **24**(24): p. 4337-4351.
8. Hoare, T.R. and D.S. Kohane, *Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges*. *Polymer*, 2008. **49**(8): p. 1993-2007.
9. Kulkarni, R.V. and S. Biswanath, *Electrically Responsive Smart Hydrogels in Drug Delivery: A Review*. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*, 2007. **5**(3): p. 125-139.
10. Qiu, Y. and K. Park, *Environment-sensitive hydrogels for drug delivery*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012. **64**: p. 49-60.
11. Kopecek, J., *Hydrogel biomaterials: a smart future?* *Biomaterials*, 2007. **28**(34):


- p. 5185-92.
12. Ruel-Gariepy, E. and J.C. Leroux, *In situ-forming hydrogels--review of temperature-sensitive systems*. Eur J Pharm Biopharm, 2004. **58**(2): p. 409-26.
 13. Yu, L. and J. Ding, *Injectable hydrogels as unique biomedical materials*. Chem Soc Rev, 2008. **37**(8): p. 1473-81.
 14. Hamed, H., et al., *Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review*. Carbohydr Polym, 2018. **199**: p. 445-460.
 15. Qian, C., et al., *Injectable and self-healing polysaccharide-based hydrogel for pH-responsive drug release*. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. **123**: p. 140-148.
 16. Tseng, T.C., et al., *An Injectable, Self-Healing Hydrogel to Repair the Central Nervous System*. Adv Mater, 2015. **27**(23): p. 3518-24.
 17. Tu, Y., et al., *Advances in injectable self-healing biomedical hydrogels*. Acta Biomaterialia, 2019. **90**: p. 1-20.
 18. Rinaudo, M., *Chitin and chitosan: Properties and applications*. Progress in Polymer Science, 2006. **31**(7): p. 603-632.
 19. Sashiwa, H. and S.-i. Aiba, *Chemically modified chitin and chitosan as biomaterials*. Progress in Polymer Science, 2004. **29**(9): p. 887-908.
 20. Hu, Z., et al., *Chitosan-Based Composite Materials for Prospective Hemostatic Applications*. Mar Drugs, 2018. **16**(8).
 21. Bellich, B., et al., *"The Good, the Bad and the Ugly" of Chitosans*. Mar Drugs, 2016. **14**(5).
 22. Qu, X., A. Wirsén, and A.C. Albertsson, *Novel pH-sensitive chitosan hydrogels: swelling behavior and states of water*. Polymer, 2000. **41**(12): p. 4589-4598.
 23. Mohammed, M.A., et al., *An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its*

- Application in Non-Parenteral Drug Delivery*. *Pharmaceutics*, 2017. **9**(4).
24. Vepari, C. and D.L. Kaplan, *Silk as a Biomaterial*. *Prog Polym Sci*, 2007. **32**(8-9): p. 991-1007.
 25. Berger, J., et al., *Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004. **57**(1): p. 19-34.
 26. Kwon, S., et al., *Physicochemical Characteristics of Self-Assembled Nanoparticles Based on Glycol Chitosan Bearing 5 β -Cholanic Acid*. *Langmuir*, 2003. **19**(24): p. 10188-10193.
 27. Qin, C., et al., *Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity*. *Carbohydrate Polymers*, 2006. **63**(3): p. 367-374.
 28. Park, H. and D. Kim, *Swelling and mechanical properties of glycol chitosan/poly(vinyl alcohol) IPN-type superporous hydrogels*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2006. **78A**(4): p. 662-667.
 29. Ilnicka, A. and J.P. Lukaszewicz, *Discussion Remarks on the Role of Wood and Chitin Constituents during Carbonization*. *Frontiers in Materials*, 2015. **2**(20).
 30. Gatto, M., et al., *Study of chitosan with different degrees of acetylation as cardboard paper coating*. *Carbohydrate Polymers*, 2019. **210**: p. 56-63.
 31. Kapadnis, G., et al., *Effect of degree of deacetylation on solubility of low-molecular-weight chitosan produced via enzymatic breakdown of chitosan*. *Polymer International*, 2019. **68**(6): p. 1054-1063.
 32. Alder, B.J. and T.E. Wainwright, *Studies in Molecular Dynamics. I. General Method*. *The Journal of Chemical Physics*, 1959. **31**(2): p. 459-466.
 33. Rahman, A., *Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon*. *Physical Review*, 1964. **136**(2A): p. A405-A411.

- 
34. Irving, J.H. and J.G. Kirkwood, *The Statistical Mechanical Theory of Transport Processes. IV. The Equations of Hydrodynamics*. The Journal of Chemical Physics, 1950. **18**(6): p. 817-829.
35. Mark, J.E., *Physical Properties of Polymers Handbook*. Springer Science & Business Media 2007.
36. Pereira, J.C.G., et al., *Atomistic modeling of silica based sol-gel processes*. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 1997. **8**(1): p. 55-58.
37. Netz, P.A. and T. Dorfmueller, *Computer Simulation Studies on the Polymer-Induced Modification of Water Properties in Polyacrylamide Hydrogels*. The Journal of Physical Chemistry B, 1998. **102**(25): p. 4875-4886.
38. Ou, X., et al., *Molecular dynamic simulations of the water absorbency of hydrogels*. J Mol Model, 2015. **21**(9): p. 231.
39. Lee, S.G., et al., *Molecular dynamics simulation study of P (VP-co-HEMA) hydrogels: effect of water content on equilibrium structures and mechanical properties*. Biomaterials, 2009. **30**(30): p. 6130-41.
40. Tamai, Y., H. Tanaka, and K. Nakanishi, *Molecular Dynamics Study of Polymer-Water Interaction in Hydrogels. 1. Hydrogen-Bond Structure*. Macromolecules, 1996. **29**(21): p. 6750-6760.
41. Tamai, Y., H. Tanaka, and K. Nakanishi, *Molecular Dynamics Study of Polymer-Water Interaction in Hydrogels. 2. Hydrogen-Bond Dynamics*. Macromolecules, 1996. **29**(21): p. 6761-6769.
42. Wen, C.H., et al., *Molecular Structures and Mechanisms of Waterborne Biodegradable Polyurethane Nanoparticles*. Comput Struct Biotechnol J, 2019. **17**: p. 110-117.
43. Franca, E.F., et al., *Characterization of Chitin and Chitosan Molecular Structure*

- in Aqueous Solution*. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008. **4**(12): p. 2141-2149.
44. Franca, E.F., L.C. Freitas, and R.D. Lins, *Chitosan molecular structure as a function of N-acetylation*. Biopolymers, 2011. **95**(7): p. 448-60.
45. Xu, H. and S. Matysiak, *Effect of pH on chitosan hydrogel polymer network structure*. Chem Commun (Camb), 2017. **53**(53): p. 7373-7376.
46. Borca, C.H. and C.A. Arango, *Molecular Dynamics of a Water-Absorbent Nanoscale Material Based on Chitosan*. J Phys Chem B, 2016. **120**(15): p. 3754-64.
47. Razmimanesh, F., S. Amjad-Iranagh, and H. Modarress, *Molecular dynamics simulation study of chitosan and gemcitabine as a drug delivery system*. J Mol Model, 2015. **21**(7): p. 165.
48. Aztatzi-Pluma, D., et al., *Study of the Molecular Interactions between Functionalized Carbon Nanotubes and Chitosan*. The Journal of Physical Chemistry C, 2016. **120**(4): p. 2371-2378.
49. Hossain, D., et al., *Molecular dynamics simulations of deformation mechanisms of amorphous polyethylene*. Polymer, 2010. **51**(25): p. 6071-6083.
50. Hobza, P., et al., *Performance of empirical potentials (AMBER, CFF95, CVFF, CHARMM, OPLS, POLTEV), semiempirical quantum chemical methods (AM1, MNDO/M, PM3), and ab initio Hartree–Fock method for interaction of DNA bases: Comparison with nonempirical beyond Hartree–Fock results*. Journal of Computational Chemistry, 1997. **18**(9): p. 1136-1150.
51. Dauber-Osguthorpe, P., et al., *Structure and energetics of ligand binding to proteins: Escherichia coli dihydrofolate reductase-trimethoprim, a drug-receptor system*. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 1988.

- 
- 4(1): p. 31-47.
52. Rapaport, D.C., *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. 1995: Cambridge University Press.
53. Allen, M.P. and D.J. Tildesley, *Computer simulation of liquids*. 1989: Clarendon Press. 385.
54. Dassault Systèmes BIOVIA, BIOVIAMaterial Studio, release 2017, San Diego: Dassault Systèmes, 2000.
55. Humphrey, W., A. Dalke, and K. Schulten, *VMD: Visual molecular dynamics*. *Journal of Molecular Graphics*, 1996. **14**(1): p. 33-38.
56. Levine, B.G., J.E. Stone, and A. Kohlmeyer, *Fast Analysis of Molecular Dynamics Trajectories with Graphics Processing Units-Radial Distribution Function Histogramming*. *J Comput Phys*, 2011. **230**(9): p. 3556-3569.
57. Zhang, Y., A. Otani, and E.J. Maginn, *Reliable Viscosity Calculation from Equilibrium Molecular Dynamics Simulations: A Time Decomposition Method*. *J Chem Theory Comput*, 2015. **11**(8): p. 3537-46.
58. Cranford, S.W. and M.J. Buehler, *Variation of Weak Polyelectrolyte Persistence Length through an Electrostatic Contour Length*. *Macromolecules*, 2012. **45**(19): p. 8067-8082.
59. Islam, A. and T. Yasin, *Controlled delivery of drug from pH sensitive chitosan/poly (vinyl alcohol) blend*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. **88**(3): p. 1055-1060.
60. Wang, Q., J. Zhang, and A. Wang, *Preparation and characterization of a novel pH-sensitive chitosan-g-poly (acrylic acid)/attapulgate/sodium alginate composite hydrogel bead for controlled release of diclofenac sodium*. *Carbohydrate Polymers*, 2009. **78**(4): p. 731-737.

- 
61. Vaghani, S.S., M.M. Patel, and C.S. Satish, *Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogel composed of carboxymethyl chitosan for colon targeted delivery of ornidazole*. Carbohydr Res, 2012. **347**(1): p. 76-82.
62. Pillai, C.K.S., W. Paul, and C.P. Sharma, *Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation*. Progress in Polymer Science, 2009. **34**(7): p. 641-678.
63. Blackwell, J., *Structure of β -chitin or parallel chain systems of poly- β -(1 \rightarrow 4)-N-acetyl-D-glucosamine*. Biopolymers, 1969. **7**(3): p. 281-298.
64. Yui, T., et al., *Exhaustive crystal structure search and crystal modeling of β -chitin*. International Journal of Biological Macromolecules, 2007. **40**(4): p. 336-344.